



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

EFEITOS PLEIOTRÓPICOS DAS ESTATINAS

Trabalho submetido por
Manuel Luís Ramos Borges da Cruz
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professor Doutor José Martins dos Santos

outubro de 2013

Agradecimentos

No decorrer da realização desta monografia foram vários o que me apoiaram e orientaram da melhor forma, sendo também esta monografia um produto final das suas acções.

Queria assim deixar uma palavra de agradecimento aos que tornaram possível a realização deste trabalho.

Ao professor doutor José Martins dos Santos, pela grande disponibilidade e excelente orientação prestada;

À família, em especial à mãe e irmão, por serem os meus pilares de apoio em todas as situações;

Ao meu colega e amigo João Paulino, pela grande ajuda prestada na recta final da realização desta monografia;

À namorada, Soraia Veiga, por ser o meu catalisador motivacional e também um constante apoio.

A todos, um muito obrigado.

Índice

Agradecimentos.....	2
Índice de Figuras	5
Índice de Tabelas	6
Lista de abreviaturas	7
Resumo	9
Abstract.....	10
1. Introdução.....	11
2. Perspectiva histórica e descoberta das estatinas.....	13
3. Estrutura molecular, mecanismo de acção, farmacocinética e farmacodinâmica das estatinas	16
3.1. Mecanismo de acção	20
4. Via de síntese do colesterol LDL: regulação da enzima HMG-CoA reductase.....	22
5. Acção anti-proliferativa das estatinas	29
5.1. Superfamília Ras: acção cancerígena e noutras patologias.....	29
5.2. Acção anti-cancerígena.....	30
5.2.1. Cancro da Próstata e do Cólon	33
5.2.2. Cancro da mama	34
5.2.3. Cancro do fígado	34
5.2.4. Cancro do esófago	35
5.2.5. Cancro do pulmão de não pequenas células	35
6. Potencial anti-inflamatório das estatinas.....	36
6.1. Aterosclerose	36
6.2. Artrite Reumatóide	41
7. Potencial imunomodulador das estatinas.....	45
8. Efeito anti-osteoporótico das estatinas	48

9.	Efeito anti-hipertensor das estatinas.....	51
10.	Efeito terapêutico das estatinas na doença de Alzheimer.....	54
11.	Outros efeitos pleiotrópicos das estatinas.....	57
11.1.	Asma.....	57
11.2.	Hepatite viral.....	58
11.3.	Vírus <i>Influenza</i>	58
11.4.	Doença de Parkinson.....	59
11.5.	Protecção de órgãos.....	60
12.	Conclusão	61
	Bibliografia.....	64

Índice de Figuras

Figura 1. Estrutura molecular da compactina.....	14
Figura 2. Estruturas moleculares das estatinas no mercado actual.....	17
Figura 3. Reacção química entre a HMG-CoA e a HMGR, dando origem ao mevalonato.	22
Figura 4. Ligação da proteína Insig com a proteína gp78 para iniciar o processo de ubiquitação da HMGR em condições de excesso de colesterol	24
Figura 5. Reações intermediárias da via de formação do colesterol através do lanosterol	26
Figura 6. Esquema sumário da via bioquímica do mevalonato.....	28
Figura 7. Esquema representativo das vias PI3K/Akt/mTOR, ras/MEK/ERK e vias de sinalização celular.....	32
Figura 8. Formação da placa de ateroma.....	37
Figura 9. Efeito das estatinas a nível da regulação dos linfócitos Th1 e Th2	39
Figura 10. Regressão da placa de ateroma devido ao efeito das estatinas.	40
Figura 11. Representação de uma articulação sinovial	42
Figura 12. Dupla relação dos efeitos das estatinas na artrite reumatóide. A diminuição do risco cardiovascular e a diminuição dos factores inflamatórios decorrentes da artrite reumatóide	43
Figura 13. Inibição da expressão de moléculas de MHC-II em factores imunitários induzida pelas estatinas	46
Figura 14. Comparação de densidade óssea de um osso normal e um osso com osteoporose	49
Figura 15. Resumo da cadeia da relação entre factores de risco de hipertensão, hipertensão e patologias relacionadas com a hipertensão	51
Figura 16. Depósitos de β -amilóide no córtex cerebral de um doente com Doença de Alzheimer	55

Índice de Tabelas

Tabela 1. Resumo de algumas características farmacocinéticas das estatinas	19
---	----

Lista de abreviaturas

AMP – Adenosina monofosfato
AMPK – *AMP-activated protein kinase*
APP – *Amyloid precursor protein*
AT1 – *Angiotensin II type 1*
ATP – Adenosina trifosfato
CIITA – *Class II transactivator*
COPII – *Coat protein*
COX - Ciclooxygenase
eNOS – Óxido nítrico sintase endotelial
FLS – *Fibroblast-like synoviocytes*
GGOH – Geranilgeraniol
GTP – Guanosina trifosfato
HDL – *High density lipoprotein*
HMG-CoA - 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A
HMGR – 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductase
IL - Interleucina
INSIG – *Insulin induced gene*
LDL – *Low density lipoprotein*
LFA – *Leukocyte function-associated antigen*
MCP – *Monocyte chemoattractant protein*
M-CSF – *Macrophage colony-stimulating factor*
MHC-II – Complexo de histocompatibilidade major II
MK – *Mevalonate kinase*
MMP – *Matrix metalloproteinase*
NFT – *Neurofibrillary tangles*
NO – Óxido nítrico
NOS – Óxido nítrico sintase
OPG - Osteoprogenina

P97/VCP – *Ubiquitin dependent molecular chaperone/valosin-containing protein*

PAI-1 – *Plasminogen activator inhibitor 1*

PCR – *Proteína C reactiva*

PPAR – *Peroxisome proliferator-activated receptors*

PMK – *Phosphomevalonate kinase*

PP2A – *Protein phosphatase 2A*

RANK – *Receptor activator of nuclear factor κ B*

RANKL - *Receptor activator of nuclear factor κ B ligand*

SCAP – *SREBP cleavage-activating protein*

SREBP – *Sterol regulatory element binding proteins*

TGF- β – *Transforming growth factor beta*

TMUB – *Transmembrane and ubiquitin-like domain containing*

TNF – *Factor de necrose tumoral*

tPA – *Tissue-type plasminogen activator*

TXA2 – *Tromboxano A2*

UBC7- *Ubiquitin conjugating enzyme*

VHC – *Vírus da hepatite C*

Resumo

As estatinas, inibidores da 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductase (HMGR), são uma das actuais terapêuticas para a redução da hipercolesterolemia, sendo esta a classe de fármacos mais prescrita para essa condição.

O seu mecanismo de acção é único na inibição da enzima HMGR, enzima limitante da via do mevalonato, que vai originar como produto final o colesterol.

A via do mevalonato, porém, origina vários outros produtos para além do colesterol. Esses produtos, enzimas e isoprenóides, estão implicados em várias acções no organismo que poderão estar envolvidas em várias patologias, como as cancerígenas, cardiovasculares, reumatológicas, entre outras.

A acção das estatinas na inibição da via do mevalonato vai conferir-lhes então outros efeitos para além do seu propósito principal; esses efeitos, denominados de efeitos pleiotrópicos, poderão constituir um avanço terapêutico para as mais variadas patologias. Efeitos imunomoduladores, efeitos anti-inflamatórios ou anti-proliferativos são exemplos de novos efeitos descritos nas estatinas, que poderão expandir o potencial desta classe de fármacos, que ainda está apenas confinada à redução da hipercolesterolemia.

Palavras-chave: Estatinas, hipercolesterolemia, via do mevalonato, efeitos pleiotrópicos.

Abstract

Statins, 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors, are one of the therapeutics for the reduction of hypercholesterolemia, and are the most widely prescribed drugs for that condition.

They have a unique mechanism of action in the inhibition of the HMGR, which is the limiting enzyme on the mevalonate pathway that has in its final product the cholesterol.

However, the mevalonate pathway gives rise to other products beside cholesterol. Those other products, enzymes and isoprenoids, are implicated in various actions in our body that may be involved in several pathologies, like cancer, cardiovascular or rheumatologic pathologies, among others.

The action of statins in the inhibition of the mevalonate pathway give statins other effects beyond their principal proposal; those effects, called pleiotropic effects, might constitute a new therapeutic advance for several pathologies. Immunomodulatory, anti-inflammatory and anti-proliferative effects are examples of other described effects of statins, and might expand their potential, beyond the reduction of hypercholesterolemia.

Keywords: Statins, hypercholesterolemia, mevalonate pathway, pleiotropic effects.

1. Introdução

As estatinas, inibidores da HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A) reductase, são uma classe de fármacos utilizados no combate à hipercolesterolemia, e estão ligados a uma redução não só do colesterol, neste caso, do colesterol LDL (*low density lipoprotein*), como também estão ligados a uma redução de uma série de comorbilidades associadas à hipercolesterolemia, como a aterosclerose, grande precursor de episódios vasculares, tais como o enfarte agudo do miocárdio, e outros episódios trombóticos (Istvan & Deisenhofer, 2001; Stancu & Sima, 2001).

O facto de serem bem toleradas e da sua grande eficácia como agentes anti-hipercolesterolémicos, faz das estatinas a classe de fármacos mais utilizadas na redução do colesterol LDL plasmático (Stancu & Sima, 2001). O facto de também apresentarem outros efeitos para além do seu principal propósito, os efeitos pleiotrópicos, fazem destes fármacos um objecto de estudo bastante atractivo no que concerne à pesquisa de novas terapêuticas extra colesterol. Estes outros efeitos incluem: melhorias a nível do endotélio vascular, efeitos anti-inflamatórios, imunomoduladores, anti-cancerígenos, anti-oxidantes e protecção cardiovascular e de outros órgãos (Davignon, 2012; Stancu & Sima, 2001).

Nesta monografia serão abordadas as estatinas existentes hoje em dia no mercado, referindo a sua história (descoberta da primeira estatina e evolução até hoje) o seu mecanismo de acção primário na redução do colesterol LDL bem como as suas características químicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas; o mecanismo e via de síntese do colesterol LDL, a importância da enzima HMG-CoA reductase na via de síntese do colesterol LDL (zona de actuação primária das estatinas), bem como os mecanismos associados à oxidação e inflamação inerentes a essa mesma via; serão abordados também e com maior incidência os efeitos pleiotrópicos das estatinas, que será o tema e o objectivo principal desta monografia.

A pesquisa foi feita principalmente em bases de dados, maioritariamente na base de dados PUBMED, bem como na base de dados MEDSCAPE e COCHRANE, com as palavras-chave “statins”, “statins discovery”, “statins effects”, “pleiotropic effects of statins”, “HMG-CoA inhibitors”, “HMG-CoA reductase”, “LDL cholesterol synthesis”, “mevalonate pathway”, entre outros termos que não estavam directamente

ligados aos efeitos das estatinas, mas igualmente relevantes. Foram apenas selecionados artigos de referência, excluindo as referências repetidas e referências pouco relevantes no âmbito da presente monografia.

2. Perspectiva histórica e descoberta das estatinas

A descoberta das estatinas está intimamente ligada com a descoberta do colesterol e da relação do colesterol com a aterosclerose, uma das causas de enfarte agudo do miocárdio em mamíferos.

Foi em 1784 que o colesterol puro foi extraído pela primeira vez, a partir de cálculos biliares, e desde então vários cientistas se dedicaram ao estudo dessa molécula. Em 1910 surgiu a primeira ideia que o colesterol poderia estar ligado às placas de ateroma que conduziriam à aterosclerose, precursoras de enfartes agudos do miocárdio, quando foi investigado que aortas humanas com essas mesmas placas de ateroma tinham 20 vezes mais colesterol do que uma aorta normal (Endo, 2010).

Em 1939 surgiu então evidência forte entre a relação do colesterol com enfartes do miocárdio, onde foram investigados ataques cardíacos prematuros em famílias com altos valores de colesterol, o que também evidenciava que poderia existir transferência genética do aumento da propensão de desenvolver hipercolesterolemia entre familiares, que anos mais tarde se viria a confirmar (Endo, 2010).

Nos anos 50 foi então descoberta relação entre o colesterol LDL com os episódios de ataques cardíacos, e a existência de outro tipo de colesterol, o HDL (*high density lipoprotein*), que seria benéfico na prevenção de ataques cardíacos, visto que quem apresentasse altos valores de HDL teria menos propensão a um episódio maligno cardíaco (Endo, 2010).

A partir de então foi investigado e delineado o mecanismo de formação do colesterol LDL, que teria origem a partir da HMG-CoA (produto da condensação da acetil-CoA e acetoacetil-CoA, catalisado pela enzima HMG-CoA sintase), e que quando reduzido pela enzima HMGR, daria origem ao mevalonato, grande precursor do colesterol LDL e de outros isoprenóides (hidrocarbonetos com 5 carbonos similares aos terpenos, resultado do metabolismo da via do mevalonato, com diferentes acções biológicas) (Barkovich & Liao, 2001; Edwards & Ericsson, 1999; Endo, 2010).

Foi também verificado que o colesterol poderia ser não só sintetizado pelo fígado, como também poderia ser absorvido da dieta, estando ambos ligados, pois a síntese de colesterol endógeno baixa os seus níveis de produção quando há um aumento

do consumo de colesterol ingerido pela dieta (Endo, 2010). Assim, a estratégia para reduzir o colesterol LDL seria não só uma dieta pobre em gorduras, mas também se tentasse inibir a enzima precursora e limitante da via do mevalonato, a HMGR, conseguindo assim baixar os níveis de produção de colesterol endógeno, partindo daqui o nascimento das estatinas (Stossel, 2008).

O cientista Akira Endo, considerado o pai das estatinas, foi o grande impulsionador da descoberta e isolamento das estatinas, a partir de fungos. Nas suas experiências verificou que os fungos conseguiam inibir a HMGR a partir de um composto que estes formavam, a citrinina. Testes em ratos demonstraram esse efeito, com a redução de colesterol plasmático a ser observado. Mais tarde foi purificado outro composto de derivação fúngica, a compactina (Figura 1) que era um potente inibidor competitivo da HMGR, nascendo assim a primeira estatina (Endo, 2010).

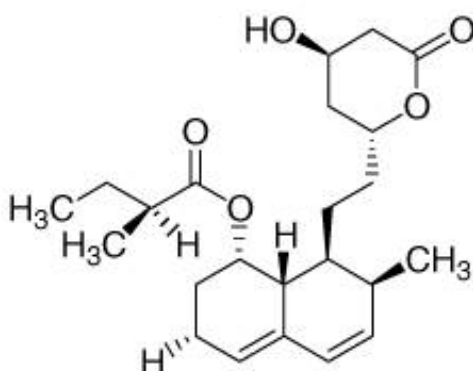


Figura 1. Estrutura molecular da compactina, adaptado de Endo (2010)

Os avanços alcançados com a compactina levaram a que esta molécula fosse transferida da investigação pessoal para a indústria farmacêutica, com a finalidade de encontrar uma nova estatina; foi então purificada de outro fungo outro composto que inibia também de forma potente a HMG-CoA reductase, a lovastatina, tendo sido assim, após vários ensaios clínicos, a primeira estatina a ser comercializada com a função de baixar os níveis de colesterol LDL (Endo, 2010).

Após a comercialização da lovastatina, surgiram novas estatinas no mercado, sendo produzidas de forma semi-sintética e sintética, que nos dias de hoje fazem parte

da classe de medicamentos mais prescrita e consumida no mundo (Endo, 2010). São essas a sinvastatina, pravastatina, rosuvastatina, atorvastatina, fluvastatina e pitavastatina, sendo a atorvastatina a estatina mais prescrita do mundo até 2012 (S. P. Adams, Tsang, & Wright, 2012; Endo, 2010). Existiu ainda uma outra estatina, a cerivastatina, que foi removida do mercado devido à morte de vários pacientes, devido aos seus fortes efeitos adversos, no caso, a rabdomiólise (lise das células musculares esqueléticas) (Stancu & Sima, 2001).

Para efeitos desta monografia, cujo tema principal passará pelos efeitos pleiotrópicos das estatinas, a cerivastatina não será mais referida, uma vez que está fora do mercado actual.

3. Estrutura molecular, mecanismo de acção, farmacocinética e farmacodinâmica das estatinas

Existem no mercado, como referido, vários tipos de estatinas, com características farmacocinéticas e farmacodinâmicas diferentes. A lovastatina, a primeira estatina comercializada, é um derivado fúngico, bem como a sinvastatina e a pravastatina (semi-sintéticas), consideradas estatinas tipo 1; as outras são derivados puramente sintéticos, sendo elas a rosuvastatina, a atorvastatina, a fluvastatina e a pitavastatina, consideradas estatinas tipo 2 (Endo, 2010; Istvan & Deisenhofer, 2001; Schachter, 2005).

Quimicamente e no geral, as estatinas têm na sua estrutura 3 zonas distintas: uma zona que serve de substrato análogo da HMG-CoA para a enzima que vão inibir, no caso, a HMGR, seguido de outra zona que está ligada por uma ligação covalente a este substrato análogo da HMG-CoA, um anel hidrofóbico, que é responsável pela ligação do substrato à enzima e que vai criar o complexo enzima-substrato HMGR-estatina, e por último uma zona que vai conferir à molécula as suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas, como a sua solubilidade (Schachter, 2005).

De todas as estatinas, a rosuvastatina é a que apresenta uma maior afinidade entre a sua estrutura com a HMGR, uma vez que apresenta mais locais de ligação entre si e a enzima, resultando assim numa mais eficiente formação do complexo enzima-substrato (Istvan & Deisenhofer, 2001). Esta maior afinidade com a enzima HMGR poderá resultar numa maior potência desta estatina em relação às outras no que diz respeito à inibição dessa mesma enzima (Schachter, 2005).

As estatinas podem ser hidrofílicas e lipofílicas (Figura 2): no primeiro caso temos a rosuvastatina e a pravastatina, mais hidrofílicas pois a rosuvastatina possui um grupo metano sulfonamida e a pravastatina um grupo polar hidroxilo, e no segundo caso temos as restantes, característica que vai influenciar a sua distribuição individual (Schachter, 2005).

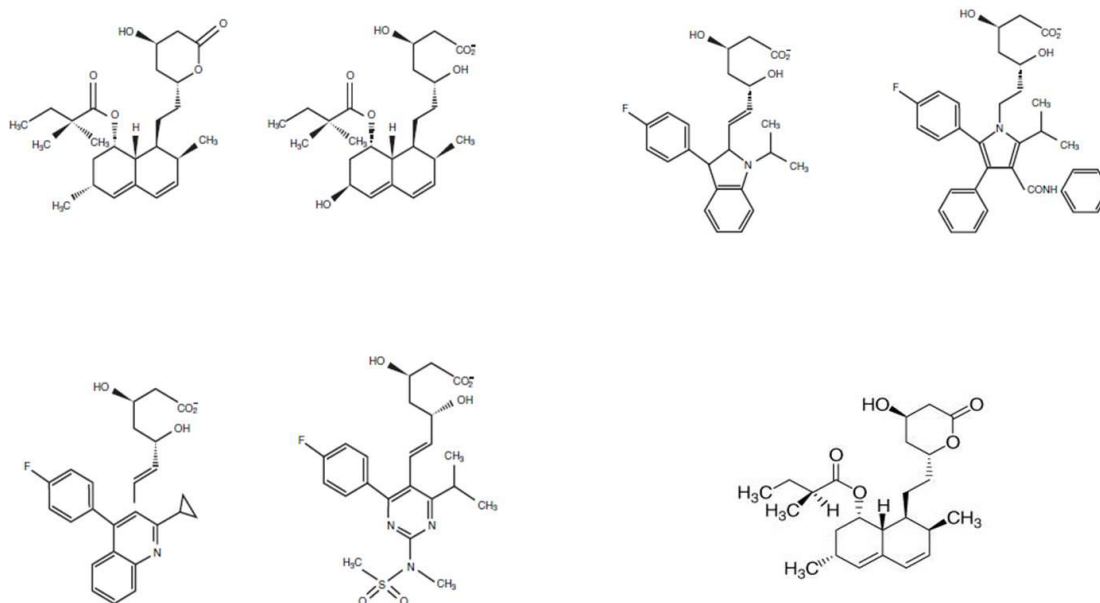


Figura 2. Estruturas moleculares das estatinas no mercado actual – Em cima da esquerda para a direita: Sinvastatina, Pravastatina, Fluvastatina, Atorvastatina. Em baixo da esquerda para a direita: Pitavastatina, Rosuvastatina, Lovastatina. Adaptado de Endo (2010) e Schachter (2005).

Todas as estatinas são hepatoseleivas, colocando o fígado como órgão alvo das mesmas, uma vez que a formação de colesterol endógeno ocorre nesse órgão (Istvan & Deisenhofer, 2001; Schachter, 2005).

A forma activa com que as estatinas actuam não são semelhantes entre todas: a sinvastatina e a lovastatina são administradas como pró-fármacos, ou seja, na forma inactiva, neste caso, como uma lactona que será depois transformada enzimaticamente (hidrolisadas por paraoxonases e esterases) na sua forma activa, em hidroxi-ácidos; as restantes estatinas já são administradas na sua forma activa (Istvan & Deisenhofer, 2001; Schachter, 2005).

O metabolismo das estatinas também não é semelhante em todas: a atorvastatina, a sinvastatina e a lovastatina são metabolizadas por enzimas da família do citocromo p450, principalmente pela enzima CYP3A4; a fluvastatina é metabolizada principalmente pela enzima CYP2C9; porém, a pravastatina não é metabolizada pela família do citocromo p450, e a rosuvastatina e a pitavastatina são muito pouco metabolizadas por essa família enzimática, sendo que se considera que também não são metabolizadas por essa via. Com efeito, a rosuvastatina não é praticamente

metabolizada (apenas 10% é metabolizada) (Neuvonen, Niemi, & Backman, 2006; Schachter, 2005).

O facto de serem ou não metabolizadas pela família do citocromo p450 é relevante no sentido de perceber uma maior ou menor incidência de efeitos adversos, onde a dor muscular é o principal efeito. Estatinas que são metabolizadas pela referida família enzimática têm maior probabilidade de exercer interação com outros fármacos ou alimentos que inibam essa mesma família enzimática, o que vai resultar num aumento da concentração plasmática da estatina e resultar assim numa maior incidência de efeitos adversos. (Neuvonen et al., 2006; Schachter, 2005).

A via de eliminação principal das estatinas é a excreção biliar, mas também podem ser excretadas pelos rins e fígado simultaneamente, como no caso da pravastatina e rosuvastatina (Schachter, 2005).

Os tempos de meia vida de cada estatina são diferentes, e é um dos parâmetros farmacocinéticos que vai ter relevância na hora de administração de cada uma delas. Assim, temos que a fluvastatina e a pravastatina são as que apresentam o tempo de meia vida mais curto entre todas, de cerca de 1-3h; a sinvastatina e a lovastatina 2-5h; a pitavastatina 10-13h; a atorvastatina 7-20h; a rosuvastatina apresenta o maior tempo de meia vida, cerca de 20h (Neuvonen et al., 2006).

Os tempos de meia vida são demonstrativos de que não é exactamente necessário administrar uma estatina na altura da noite, como é preconizado (a formação de colesterol endógeno é maior durante a noite). Com efeito, apenas as estatinas com tempo de meia vida curto devem ser administradas à noite, sendo que as estatinas que têm longos tempos de meia vida podem ser administradas a qualquer altura do dia, sem prejuízo do seu efeito principal (Schachter, 2005).

À excepção da pitavastatina, que apresenta uma biodisponibilidade na ordem dos 60%, as restantes estatinas demonstram uma biodisponibilidade baixa, o que representa um forte efeito de primeira passagem hepático, que será benéfico, uma vez que as estatinas têm o fígado com órgão alvo (Neuvonen et al., 2006; Schachter, 2005).

No que diz respeito à sua relação com as membranas e entrada nos hepatócitos, também aqui se verificam diferenças entre as diferentes estatinas; as lipofílicas têm a sua entrada efectuada por difusão passiva; por outro lado as hidrofílicas têm a entrada

nos hepatócitos garantida por difusão activa ou facilitada, e vão ter entrada limitada nas outras células, como as musculares, o que poderá influenciar a potência destas estatinas, visto que o órgão alvo destas ser apenas o fígado (Neuvonen et al., 2006; Schachter, 2005).

Tabela 1. Resumo de algumas características farmacocinéticas das estatinas. Adaptado de Schachter, (2005) e Neuvonen et al. (2006).

	Biodisponibilidade	Solubilidade	Tempo de meia-vida	Metabolismo pelo cit. p450	Hora óptima de administração
Fluvastatina	30%	Lipofílica	1-3h	Sim	Noite
Pravastatina	18%	Hidrofílica	1-3h	Não	Noite
Sinvastatina	<5%	Lipofílica	2-5h	Sim	Noite
Lovastatina	5%	Lipofílica	2-5h	Sim	Noite
Pitavastatina	60%	Lipofílica	10-13h	Não (limitado)	Sem dados
Atorvastatina	12%	Lipofílica	7-20h	Sim	Qualquer hora
Rosuvastatina	20%	Hidrofílica	20h	Não (limitado)	Qualquer hora

3.1. Mecanismo de acção

O mecanismo de acção das estatinas é relativamente simples. O seu objectivo é, como referido, inibir a enzima HMGR, e assim impedir a redução da HMG-CoA em mevalonato, que é um precursor limitante do colesterol. Impedindo a formação de mevalonato, a formação de colesterol LDL é cancelada e obtém-se a consequente redução dos níveis desse mesmo colesterol a nível plasmático, que é o principal objectivo (Istvan & Deisenhofer, 2001).

As estatinas são inibidores competitivos da HMGR e vão-se ligar, através de um grande número de ligações polares e de Van der Waals, ao centro activo da enzima HMGR, por meio de grupos funcionais semelhantes à HMG-CoA, que vai resultar numa ligação bastante semelhante entre o verdadeiro substrato (HMG-CoA) e a enzima. Porém, não só se ligam ao centro activo da referida enzima, o que por si já vai impedir a ligação com a HMG-CoA, mas também vão alterar a conformação da enzima, garantindo assim que a HMGR não se transforme numa forma funcional, apesar de já estar ligada. Esta a ligação ao centro activo da enzima é reversível (Istvan & Deisenhofer, 2001; Stancu & Sima, 2001).

A ligação entre a estatina e a enzima é então obtida, como referido, por uma série de ligações polares entre a zona que serve de substrato da HMG-CoA e os resíduos aminoácidos presentes na enzima, a Ser⁶⁸⁴, Asp⁶⁹⁰, Lys⁶⁹¹ e Lys⁶⁹². Uma ligação não covalente entre a Lys⁷³⁵ com o substrato da estatina também contribui para a formação do complexo, bem como um rede de ligações de hidrogénio entre o Glu⁵⁵⁹, a Asp⁷⁶⁷ e o O5-hidroxil da estatina. O grande número de ligações Van der Waals presentes no complexo acontece então aquando da ligação das várias cadeias laterais hidrofóbicas que contêm resíduos aminoácidos como a Leu⁵⁶², a Val⁶⁸³, a Leu⁸⁵³, a Ala⁸⁵⁶ e a Leu⁸⁵⁷ com a estatina (Istvan & Deisenhofer, 2001).

Como referido anteriormente, a rosuvastatina é a que terá maior afinidade com a HMGR, podendo resultar assim num aumento de potência desta estatina. De facto, a rosuvastatina apresenta uma ligação com a enzima o que não acontece com as outras estatinas, uma ligação polar entre o grupo sulfona da rosuvastatina com o resíduo Arg⁵⁶⁸ da enzima. Esta característica aumenta a afinidade entre o complexo, podendo resultar numa maior inibição dessa mesma enzima (Istvan & Deisenhofer, 2001).

Todas estas características, como as inúmeras ligações polares e fortes ligações de Van der Waals entre as estatinas e a HMGR, e o facto de as estatinas apresentarem uma grande semelhança entre a HMG-CoA, o substrato que quando ligado à HMGR dá origem à via do mevalonato e consequente formação do colesterol LDL, fazem desta classe de fármacos a mais potente no que à inibição da formação desse mesmo colesterol diz respeito.

4. Via de síntese do colesterol LDL: regulação da enzima HMG-CoA reductase

A via de biossíntese do colesterol LDL, ou via do mevalonato, obedece a uma série de reações que têm origem na HMG-CoA e, após ser reduzida pela HMGR, vai originar o mevalonato ou ácido mevalónico (Figura 3). Essa redução através da enzima HMGR é um passo limitante da via do mevalonato, explicando assim a acção biológica das estatinas (Buhaescu & Izzedine, 2007).

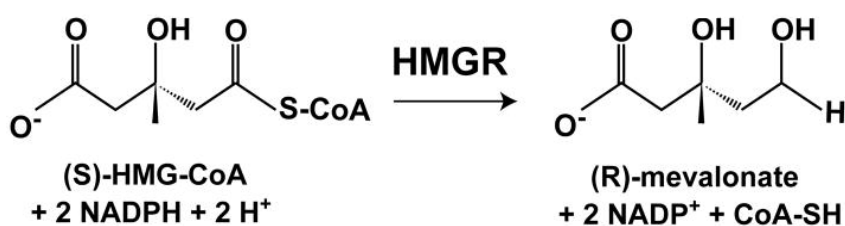


Figura 3. Reacção química entre a HMG-CoA e a HMGR, dando origem ao mevalonato.

Retirado de Burg & Espenshade (2011)

A via do mevalonato é importante pois é a partir desta via que se dá a síntese de vários isoprenóides, que são essenciais em vários processos celulares. A partir desta via é sintetizado o colesterol, importante na regulação da bi-camada lipídica e ácidos biliares, bem como outros esteróis e lipoproteínas importantes na regulação celular, que vão estar envolvidos na sinalização intracelular e nos mecanismos de crescimento e diferenciação celular. A expressão genética, glicosilação proteica e toda a construção do citoesqueleto celular dependem também de muitos intermediários desta via (Buhaescu & Izzedine, 2007).

A via do mevalonato começa então quando se dá a redução da HMG-CoA para mevalonato através da enzima HMGR. Esta redução acontece quando a HMGR é activada através de um família de factores de transcrição, as SREBP (*sterol regulatory element binding proteins*), quando há um défice de colesterol ou quando é necessário responder às exigências celulares pelos referidos isoprenóides. Como o seu nome indica, essa família de proteínas de mediação dos esteróis tem uma grande implicação

na regulação da via do mevalonato e em consequência na regulação de todos os esteróis que vão existir em circulação (Buhaescu & Izzedine, 2007).

Para promover a activação da HMGR, as SREBP também necessitam de uma proteína, a proteína Scap (*SREBP cleavage-activating protein*) que se vai acoplar a estas e que vai mediar a clivagem das SREBP quando chegam ao complexo de Golgi, vindas do retículo endoplasmático (DeBose-Boyd, 2008). Esse transporte é efectuado por uma família proteica chamada COPII (*coat protein*), e é a proteína Scap que liga o complexo SREBP-Scap à proteína COPII (Burg & Espenshade, 2011; DeBose-Boyd, 2008).

Depois de clivados, os fragmentos das SREBP vão para o citosol e de seguida para o núcleo da célula, que vai posteriormente estimular a expressão do gene alvo, neste caso o da activação da HMGR, que vai originar uma maior produção de esteróis e colesterol e consequentemente uma maior absorção dos mesmos pelas células (Burg & Espenshade, 2011; DeBose-Boyd, 2008).

Quando as exigências celulares já se encontram satisfeitas e já não é necessário mais produção de isoprenóides, a actividade da HMGR é suprimida e assim termina a cascata do mevalonato (Burg & Espenshade, 2011).

Uma proteína que está presente no retículo endoplasmático chamada de Insig (*insulin induced gene*) vai inibir a activação das SREBP, ligando-se à proteína limitante da activação das SREBP, a Scap. Ao ligar-se à Scap, esta vai ter a sua estrutura alterada, e assim já não vai ser reconhecida pela proteína COPII, parando o transporte das SREBP para o complexo de Golgi e posteriormente para o núcleo celular, parando a estimulação da expressão do gene que daria origem à activação da HMGR (Burg & Espenshade, 2011).

Apesar da activação da HMGR ser suprimida, é necessário também proceder à degradação da enzima, para parar a cascata do mevalonato e cessar a síntese de mais isoprenóides. Essa degradação é conseguida através da ligação de uma proteína, a gp78 (proteína de degradação associada ao retículo endoplasmático, uma E3 ubiquitina ligase) e a proteína Insig (Figura 4); a enzima vai assim sofrer um processo de ubiquitinação, ou seja, um processo de degradação proteossómica (Burg & Espenshade, 2011; DeBose-Boyd, 2008).

A proteína gp78 vai então ter um papel central na degradação da HMGR. Esta vai activar a Ubc7 (*ubiquitin conjugating enzyme*), que vai fornecer então a gp78 com ubiquitina activada (Burg & Espenshade, 2011). Também vai ser activada a p97/VCP (*ubiquitin dependent molecular chaperone ou valosin-containing protein*), que é um ATPase importante neste processo (Vaz, Halder & Ramadan, 2013). A gp78 ainda se vai ligar a uma proteína da membrana do retículo endoplasmático, a SPFH2 (mediador de ubiquitinação) através da TMUB1 (*transmembrane and ubiquitin-like domain containing 1*), mediadores limitantes da ubiquitinação da HMGR pela gp78, que é extraída da membrana e finalmente degradada (Burg & Espenshade, 2011; Jo, Sguigna, & DeBose-Boyd, 2011; Pearce, Wang, Kelley, & Wojcikiewicz, 2007; Ying et al., 2009).

Para que ocorra toda este mecanismo de degradação da HMGR, que vai ser dependente da proteína Insig, despoletando todo o já referido processo, é necessário também que haja uma activação deste mecanismo, que é efectuado através de sinais lipídicos. Esses sinais, enviados por esteróis, como o intermediário do colesterol 24,25 dihidrolanosterol ou o lanosterol, e por um isoprenóide, o GGOH (geranilgeraniol), vão activar e estimular a ligação da proteína Insig à proteína Scap e promover então todo o processo de degradação da HMGR (Burg & Espenshade, 2011; DeBose-Boyd, 2008).

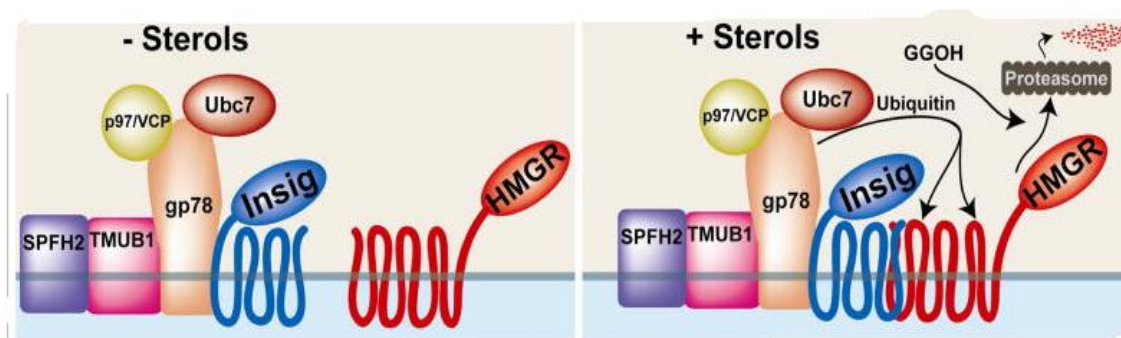


Figura 4. Ligação da proteína Insig com a proteína gp78 para iniciar o processo de ubiquitinação da HMGR em condições de excesso de colesterol (à direita). Retirado de Burg & Espenshade (2011)

A HMGR tem também outros processos de activação e inactivação, que são independentes do processo mediado pela proteína Insig. Um processo intercedido pela AMPK (*AMP-activated protein kinase*), que através de uma série de reacções com a AMP (adenosina monofosfato) e o ATP (adenosina trifosfato), vai aumentar a sua

capacidade catalítica e assim fosforilar a HMGR, ligando-se à mesma, inactivando-a quando necessário. Em condições de pouco colesterol a enzima retoma a sua actividade através de uma desfosforilação mediada pela PP2A (*protein phosphatase 2A*), dando novo início à cascata do mevalonato e síntese de isoprenóides (Burg & Espenshade, 2011).

Após a activação da HMGR, temos então a redução da HMG-CoA em mevalonato, o primeiro passo da cascata da formação do colesterol. A partir daqui outra enzima, a MK (*mevalonate kinase*) vai ter também preponderância nesta via, uma vez que vai catalisar o mevalonato em fosfomevalonato. Esta enzima também vai sofrer uma regulação específica, uma vez que a sua activação é efectuada por sinais provenientes de produtos da via do mevalonato, a geranilpirofosfato farnesilpirofosfato e a geranilgeranilpirofosfato (Buhaescu & Izzedine, 2007).

O fosfomevalonato vai ser convertido em mevalonato-5-fosfato após a acção de outra enzima, a PMK (*phosphomevalonate kinase*). Segue-se uma descarboxilação, passando a mevalonato-5-fosfato para isopentil-5-pirofosfato. Aqui, através da enzima geranil fosfato sintase, vai ser sintetizada a geranil pirofosfato. Segue-se a acção da farnesil pirofosfato sintase, que vai originar a farnesil pirofosfato. A farnesil pirofosfato vai-se ramificar em três cadeias, duas laterais e uma principal, que vão originar diferentes isoprenóides (Buhaescu & Izzedine, 2007).

Uma das cadeias laterais da então referida farnesil pirofosfato vai dar origem à Heme A (um complexo de coordenação), à ubiquinona (coenzimaQ10, que participa em vários processos celulares de produção de ATP) e ao dolicol (percursor lipídico de glicoproteínas) (Buhaescu & Izzedine, 2007; Crane, 2001; Krisans, Ericsson, Edwards, & Keller, 1994; Rip, Rupar, Ravi, & Carroll, 1985).

Outra das cadeias laterais vai dar origem à geranilgeranil pirofosfato, que se vai formar a partir da farnesil pirofosfato por acção da enzima geranilgeranil pirofosfato sintase. A partir daqui vai-se iniciar um mecanismo de prenilação proteica, ou seja, de lipidicação de proteínas. A prenilação proteica também pode ser efectuada directamente a partir da farnesil pirofosfato (Buhaescu & Izzedine, 2007).

A cadeia principal da farnesil pirofosfato será então a que vai dar origem ao colesterol. Porém vai ainda sofrer algumas acções enzimáticas e outras reacções até chegar a esse nível. Da farnesil pirofosfato vai-se originar o esqualeno (isoprenóide

antioxidante de grande interesse clínico), a partir da enzima esqualeno sintase. Este é o primeiro passo para o final da cascata do mevalonato (Figura 6) (Buhaescu & Izzedine, 2007; Kelly, 1999).

O esqualeno vai originar o lanosterol, através de uma reação de ciclização em dois passos, em que num primeiro passo temos uma redução do esqualeno, através da enzima esqualeno monooxigenase, que vai originar o oxidoesqualeno, e num segundo passo em que o oxidoesqualeno vai originar o lanosterol (precursor de todos os esteróides), por acção da enzima lanosterol sintase (Abe, 2007; Buhaescu & Izzedine, 2007).

O lanosterol vai sofrer várias transformações, numa série de 19 reações que vão finalmente dar origem ao colesterol, que vai encerrar o ciclo da via do mevalonato, como demonstrado na Figura 5 (Bae, Lee, Fitzky, Seong, & Paik, 1999).

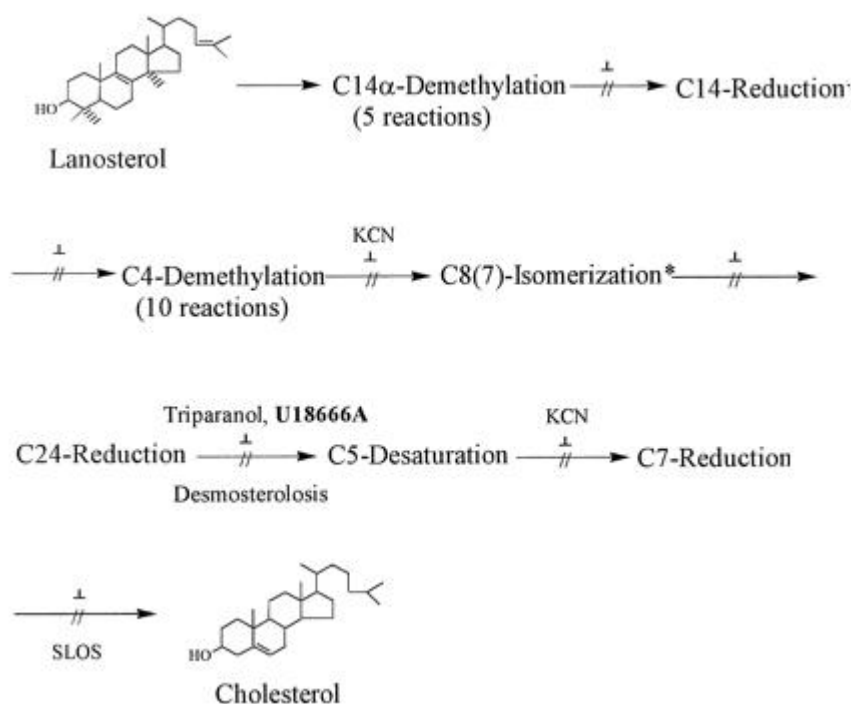


Figura 5. Reações intermediárias da via de formação do colesterol através do lanosterol.

Retirado de Bae *et al.* (1999)

Todo o processo de formação do colesterol e outros isoprenóides são de extrema importância na regulação celular. A sinalização intra e extra celular, que está relacionada com a diferenciação, crescimento e sobrevivência celular tem várias vezes origem em moléculas preniladas (Buhaescu & Izzedine, 2007).

Porém algumas destas proteínas de sinalização, como as GTPases (guanosina trifosfato) da família Ras (especialmente relacionadas com crescimento e sobrevivência celular) poderão estar na origem de doenças como o cancro ou doenças inflamatórias crónicas quando são preniladas; assim sendo, a inibição da cascata do mevalonato é um alvo terapêutico não só para o colesterol mas também para outro tipo de patologias (Fernandez-Medarde & Santos, 2011).

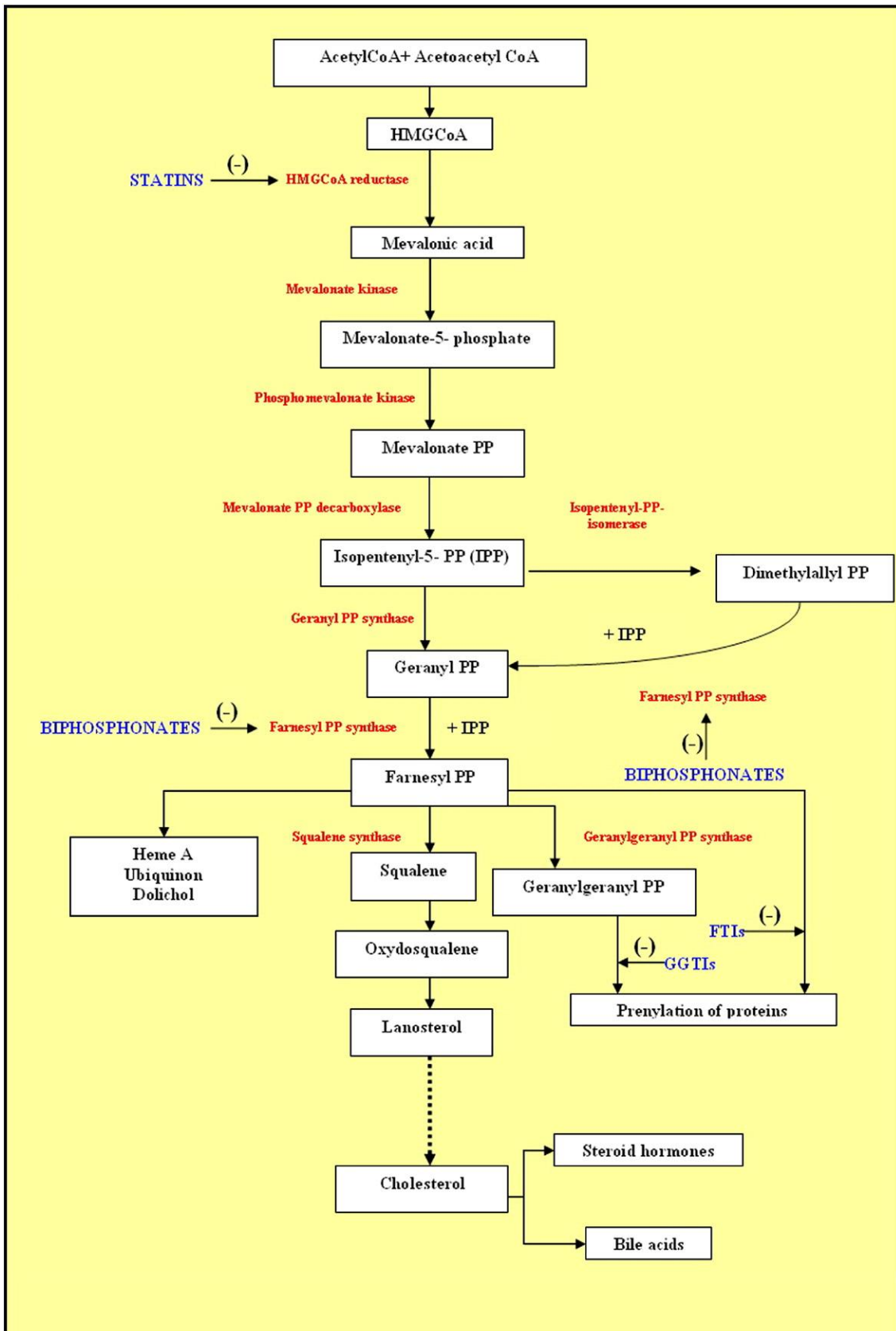


Figura 6. Esquema sumário da via bioquímica do mevalonato. Retirado de Buhaescu & Izzedine (2007).

5. Acção anti-proliferativa das estatinas

5.1. Superfamília Ras: acção cancerígena e noutras patologias

A superfamília Ras, uma família de pequenas proteínas GTPases que estão relacionadas com a transdução de sinal intra e extracelular, bem como outros processos de diferenciação e sobrevivência celular, apoptose e senescência, controlo das vesículas intracelulares e expressão genética; porém, são também de extrema importância a nível da formação de cancro e outras patologias, como referido (Fernandez-Medarde & Santos, 2011; Mitin, Rossman, & Der, 2005).

Na via do mevalonato assistimos à prenilação proteica de várias proteínas, onde a superfamília Ras também sofre extensa prenilação pós-translacional, através das enzimas farnesiltransferase, geranilgeraniltransferases I e II; vão ser transferidas para as proteínas um grupo farnesil, no caso da primeira enzima, ou um grupo geranil, no caso das duas últimas enzimas, o que pode originar mutações. Essas mutações vão mais tarde originar alterações a nível celular e em última instância vão originar cancro e outras desordens patológicas (Thurnher, Gruenbacher, & Nussbaumer, 2013).

A superfamília Ras tem vários ramos associados, todos eles ligados a diferentes tipos de transdução de sinais celulares; esses ramos incluem o Ras, Rho, Rab, Arf e Ran. Porém, são os genes da família proteica Ras que estão mais associados à formação de cancro, principalmente os genes H-ras, N-ras e o K-ras (Fernandez-Medarde & Santos, 2011). Estes oncogenes estão presentes em vários tipos de cancro, e todos demonstram uma mutação que poderá ter originado os mesmos. Podem também estar relacionados com o aumento ou diminuição da severidade de um cancro, dependendo da sua maior ou menor mutação (Fernandez-Medarde & Santos, 2011; Mitin et al., 2005).

São vários os tipos de cancro que apresentam mutações a nível dos referidos genes, sendo que cada cancro vai apresentar um gene mutado diferente e com diferentes percentagens de mutação. São exemplos de cancros que apresentam vestígios de genes Ras mutados: o adenocarcinoma pancreático, o carcinoma colorectal, cancro do pulmão de não pequenas células, melanoma maligno, carcinoma da bexiga, carcinomas da tiróide (Fernandez-Medarde & Santos, 2011).

As mutações nos três principais oncogenes da família Ras também podem originar outras patologias que não o cancro, como referido. São exemplos: desordens hematopoiéticas, neurofibromatose, síndrome de *Leopard*, síndrome de *Noonan*, síndrome de *Costello*, entre outras (Fernandez-Medarde & Santos, 2011).

Noutros ramos da superfamília Ras também se encontram outras famílias proteicas de grande relevância que sofrem prenilação e consequente mutação potencialmente cancerígena, como a Rho.

A família de GTPases Rho é também de extrema importância em termos de regulação celular. Estão implicadas não só na migração celular e fagocitose, como também na regulação da progressão celular, adesão e posterior invasão (muito relevante em termos de cancro e metástases) (Ridley, 2004). A expressão génica da mutação de genes da Rho tem sido reportada em vários tipos de cancro, sendo a inibição da Rho e consequentemente da expressão metastática que a Rho executa um efeito anti-cancerígeno exercido pelas estatinas (K. H. Khan, Yap, Yan, & Cunningham, 2013; Ridley, 2004).

5.2. Acção anti-cancerígena

A actuação das estatinas a nível da inibição da via do mevalonato e consequente inibição da prenilação proteica poderá constituir um novo objetivo terapêutico na luta contra o cancro, em concomitância com as várias quimioterapias convencionais, ou mesmo em terapia singular preventiva. Também o já provado potencial apoptótico nas células cancerígenas conferem às estatinas um grande potencial terapêutico em doenças oncológicas (Cuello, Kato, Diaz, & Owen, 2013; Thurnher et al., 2013).

A inibição da via do mevalonato constitui também um alvo preferencial contra o cancro na medida em que uma enzima citoplasmática mutada, a p53 (presente em 50% dos tumores humanos), estimula a cascata do mevalonato e vai consequentemente aumentar toda a prenilação proteica já descrita. Este facto é clinicamente relevante, porque pode ser um marcador de quais os cancros que são sensíveis à acção das estatinas, utilizando-se a p53 como o marcador para esse facto (Thurnher et al., 2013).

A inibição da sobrevivência celular e consequente acção pró-apoptótica por acção das estatinas foi já referenciada em vários estudos, em que se demonstra

claramente a inibição da via da PI3K/Akt/mTOR (via de sobrevivência celular, anti-apoptose) ou da via ras/MEK/ERK (proteínas de sinalização que quando mutadas originam vários cânceros) (Figura 7). As estatinas vão inactivar os mecanismos referidos e assim diminuir a proliferação de células cancerosas, promovendo a apoptose das mesmas (Cuello et al., 2013; K. H. Khan et al., 2013).

Outros mecanismos anti-cancerígenos das estatinas incluem também a activação das caspases 3/7/8/9 (enzimas proteolíticas pró-apoptóticas), diminuição da Bcl-2 e Bcl-xL (mediadores anti-apoptóticos e de sobrevivência celular), diminuição da cIAP1 (inibidor celular da apoptose), diminuição da c-Flip (responsável pela diminuição da acção das caspases) e aumento da Bax (proteína pró-apoptótica) e BMP (factores de crescimento importantes na prevenção de vários cânceros) (J. M. Adams & Cory, 1998; Boatright & Salvesen, 2003; Chao & Korsmeyer, 1998; Cuello et al., 2013; Hinshaw-Makepeace et al., 2008; K. H. Khan et al., 2013; Qi & Xia, 2012).

Existem ainda efeitos a nível da inflamação que vão aumentar o potencial anti-cancerígeno das estatinas. Efeitos a nível da diminuição de moléculas de adesão como da ICAM-1 e VCAM-1 (proteínas de adesão), diminuição da secreção de IL-6, IL-8, IL1 β , TNF α e MCP-1 (interleucinas e factores tumorais e quimiotáticos presentes na cascata inflamatória) e activação das PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptors*, factores de transcrição que vão participar na codificação de genes.) (Berger & Moller, 2002; Cybulsky et al., 2001; K. H. Khan et al., 2013)

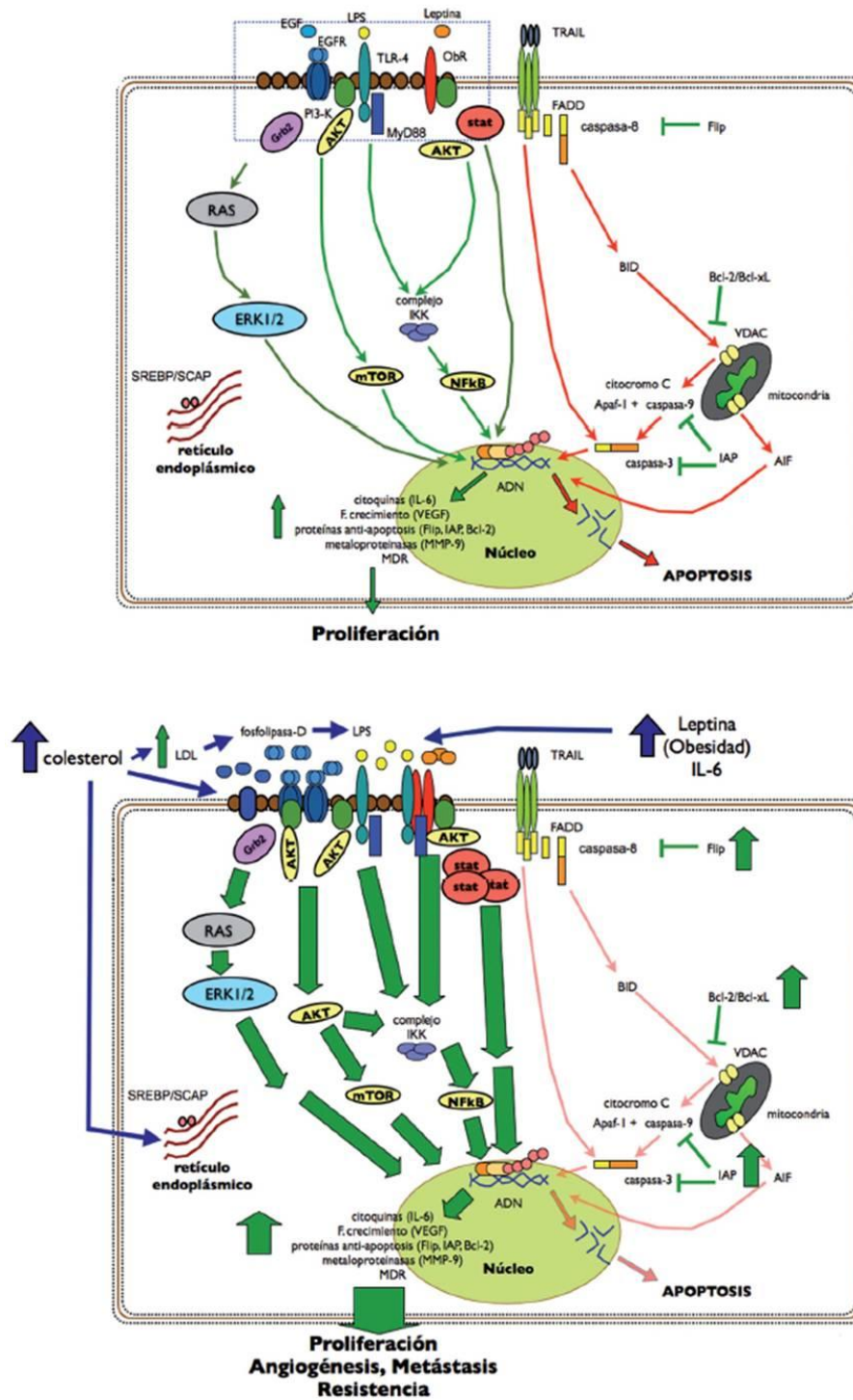


Figura 7. Esquema representativo das vias PI3K/Akt/mTOR, ras/MEK/ERK e vias de sinalização celular. Em cima está demonstrada uma célula normal, com igual equilíbrio entre sobrevivência e apoptose, e em baixo está demonstrada uma célula cancerígena, com os mediadores de sobrevivência celular em maior número que os da apoptose. Retirado de Cuello et al. (2013).

5.2.1. Cancro da Próstata e do Cólon

O cancro do cólon ou colorectal era, até 2009, o terceiro cancro mais comum em todo o mundo, afectando de igual maneira homens e mulheres (Hagggar & Boushey, 2009).

Este tipo de cancro é dependente da via do mevalonato, uma vez que em 45% dos casos este tipo de cancro apresenta mutação no oncogene K-ras, resultado da prenilação proveniente dessa mesma via (Cuello et al., 2013; Fernandez-Medarde & Santos, 2011). Existe forte evidência que as estatinas poderão ajudar a baixar a incidência deste tipo de cancro, actuando como preventivos ou mesmo como terapêutica co-adjuvante de quimioterapia (Zeichner, Mihos, & Santana, 2012). Após uma meta-análise de estudos coorte acerca deste tipo de cancro, Lochead *et al.* concluíram que existe forte evidência que a toma de estatinas vai implicar menos prevalência de metástases, maior tempo de sobrevivência e estágios cancerígenos menos avançados, quando em comparação com não consumidores de estatinas (Lochhead & Chan, 2013). Existe também evidência que as estatinas inibem a progressão deste cancro inibindo a angiogénese e capacidade de metástase, inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e induzindo apoptose celular, resultando em ainda não doentes deste cancro uma redução de 50% do risco de o desenvolver, em consumidores de estatinas há pelo menos 5 anos (Cortes-Bergoderi, Pineda, & Santana, 2013; Mihos & Santana, 2011).

O cancro da próstata é outro cancro dependente da via do mevalonato (Cuello et al., 2013). Em 2008 era, nos Estados Unidos da América, o terceiro cancro mais causador de mortes naquele país (Haas, Delongchamps, Brawley, Wang, & de la Roza, 2008). Existe evidência que as estatinas induzem autofagia e consequente morte celular, bem como apoptose e desregulação da via PI3K/Akt/mTOR, inibindo a metástase, invasão e proliferação de células cancerosas da próstata (Zeichner et al., 2012). Assim sendo, as estatinas estão associadas ao decréscimo de mortalidade relacionado com este cancro, aumentando o tempo de sobrevivência dos doentes afectados por esse mesmo cancro (Mihos & Santana, 2011).

5.2.2. Cancro da mama

O cancro da mama é um tipo de neoplasia que afecta, na grande maioria, mulheres. Existe evidência que as estatinas inibem a família Rho, responsável por invasão e metástase, como já referido. A inibição da Rho vai diminuir a probabilidade de desenvolver este cancro, uma vez que a Rho é bastante expressa nas células da mama. Também as proteínas da família Ras são aqui inibidas, diminuindo a probabilidade de mutação e diferenciação indiscriminada de células cancerosas na mama. Outro aspecto das estatinas em relação a este cancro é a acção na bcl-xL, que vão diminuir a expressão desta proteína e assim aumentar a apoptose celular. A progressão e proliferação celular, assim como a adesão e agregação de células cancerosas são assim inibidas pelas estatinas, o que vai resultar em tumores menos invasivos e de tratamento mais acessível (Zeichner et al., 2012).

Porém nem todas as estatinas têm estas propriedades nos tecidos da mama. Evidência sugere que são as estatinas hidrofóbicas que têm um maior efeito anti-proliferativo de células cancerosas na mama, proporcionando uma menor progressão deste cancro, aumentando assim o tempo de sobrevivência (Brewer et al., 2013; Zeichner et al., 2012).

5.2.3. Cancro do fígado

Até 2007, o cancro do fígado primário era o quinto cancro mais comum em todo o mundo, e o terceiro cancro que mais mortes causava mundialmente (El-Serag & Rudolph, 2007). Também aqui existe evidência que estatinas têm acção anti-proliferativa, quer em relação ao crescimento celular quer na apoptose (Cortes-Bergoderi et al., 2013). Estudos feitos em população diabética demonstram que a incidência deste cancro diminui cerca de 37%, em consumidores de estatinas (Zeichner et al., 2012).

5.2.4. Cancro do esófago

Há evidência que as estatinas são benéficas não só no cancro do esófago, mas também em doentes com esófago de Barret (patologia pré-maligna do cancro do esófago) (Cortes-Bergoderi et al., 2013). As estatinas vão induzir apoptose de células cancerosas do esófago, e vão inibir a proliferação e também diminuir o número de células passíveis de se tornarem cancerosas (como acontece no esófago de Barret), devido à inibição das vias ras/MEK/ERK e PI3K/Akt/mTOR. Também o facto de diminuírem a prenilação proteica proveniente da via do mevalonato vai diminuir a incidência deste cancro (Beales, Hensley, & Loke, 2013).

5.2.5. Cancro do pulmão de não pequenas células

Este tipo de cancro apresenta uma grande mutagenicidade a nível do oncogene K-ras (Fernandez-Medarde & Santos, 2011). Este oncogene está mutado em cerca de 16-40% dos casos analisados, sendo que as estatinas podem reduzir a incidência deste cancro devido à inibição das proteínas da família Ras, o que em consequência vai diminuir a proliferação e sobrevivência das células cancerígenas (Fernandez-Medarde & Santos, 2011; Zeichner et al., 2012). A inibição da via da PI3K/Akt/mTOR vai também aumentar a apoptose de células cancerígenas no pulmão (Zeichner et al., 2012). Estudos indicam também que o consumo de estatinas em pelo menos seis meses vai diminuir a incidência deste cancro em cerca de 50-55% (Mihos & Santana, 2011).

Existem vários estudos acerca do potencial anti-carcinogénico e anti-proliferativo das estatinas, muitos com conclusões concretas que levarão a pesquisa neste tema ainda mais fundo. Existem outros tipos de cancros onde ainda não se conseguiu correlacionar directamente o uso de estatinas com uma diminuição da incidência como é o caso dos cancros hematológicos, porém vários estudos foram e estão a ser feitos nesse sentido, a fim de se concluir o verdadeiro efeito benéfico das estatinas acerca desses mesmos cancros. Mais estudos são necessários para que a evidência acerca deste potencial das estatinas seja confirmado, pois poderão ser uma mais valia clínica e um avanço na luta contra o cancro e doenças oncológicas.

6. Acção anti-inflamatória das estatinas

6.1. Aterosclerose

Em 2011 a aterosclerose era responsável por mais de 25% de mortes em todo o mundo (Jackson, 2011). Esta patologia é resultado de um acúmulo lipídico na parede do endotélio denominado placa de ateroma, e é a grande causa de problemas cardíacos e episódios clinicamente relevantes como a angina de peito, acidente vascular cerebral e outras trombozes, ataque cardíaco, entre outros. Vários factores de risco estão inerentes a esta condição, como a dislipidémia, a hipertensão, o tabagismo, sedentarismo e obesidade (Barton, 2013).

A placa de aterosclerose é então formada por uma mistura complexa entre os elementos que estão na parede arterial (células do endotélio), por elementos celulares e do sangue, quando circundados por lípidos e gordura, inflamação vascular, activação e agregação plaquetar e disfunção do endotélio (Davignon, 2012). A lesão começa com um acumular de colesterol LDL na matriz sub-endotelial da artéria e, quando há um excesso de colesterol LDL, estes lípidos são oxidados por acção de radicais livres, conduzindo a um colesterol LDL oxidado. Esta oxidação do colesterol LDL vai levar a uma fragmentação da apo B100 (responsável pelo transporte do colesterol para os tecidos), que assim vai perder a sua afinidade com este tipo de colesterol (Sezer, Sozmen, Nart, & Onat, 2011). O colesterol LDL oxidado vai então recrutar moléculas de adesão e factores de crescimento como o M-CSF (*macrophage colony-stimulating factor*) e, em resposta a esse estímulo, são enviados monócitos que se diferenciarão em macrófagos e macrófagos para a zona onde há maior acúmulo de gordura e de fragmentos na parede arterial (Lusis, 2000).

Devido à grande quantidade de lípidos presentes nesse local, os macrófagos não conseguem remover toda a gordura e começam a encher-se eles próprios de lípidos, que vai dar origem a células espumosas (*foam cells*). Também vão ser recrutados para a zona de acumulação lipídica linfócitos, que vão inflamar o endotélio. Esta inflamação vai danificar o endotélio arterial, e assim se vai originar agregação não só de colesterol, como de plaquetas, que vão formar as placas de ateroma (Figura 8) e trombos plaquetários (Libby, 2012). À medida que aumenta a placa de ateroma, aumenta a

probabilidade de uma trombose, pois a parede endotelial vai ficando mais frágil e mais susceptível a ruptura (Davignon, 2012; Lusis, 2000; Sezer et al., 2011).

O LDL oxidado também vai inibir os factores anti-trombóticos fisiológicos, como o óxido nítrico (NO), responsável pelo relaxamento endotelial (Lusis, 2000).

O NO é um regulador da homeostase endotelial, que controla a vasodilatação e o relaxamento do endotélio. A sua biodisponibilidade é resultado da produção expressa pela NOS (óxido nítrico sintase), que se vê diminuída em caso de grandes quantidades de colesterol LDL circulante (Andrade et al., 2013; Stancu & Sima, 2001).

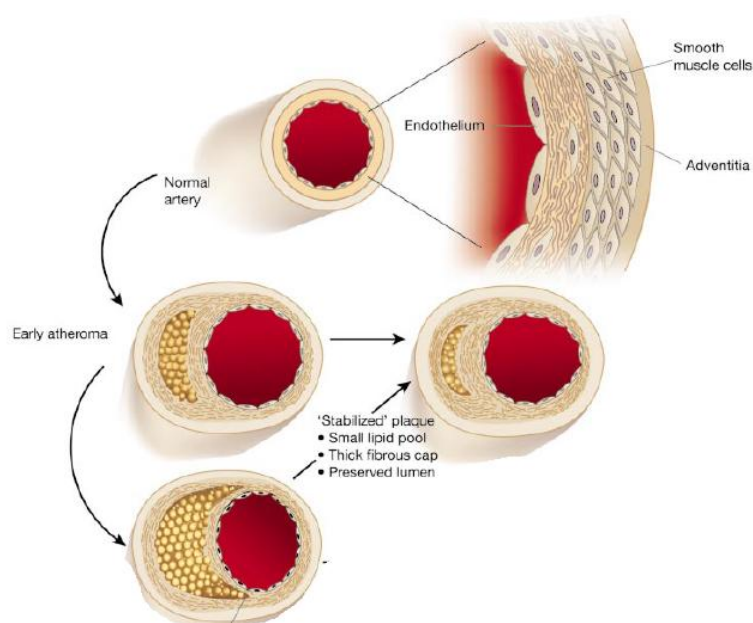


Figura 8. Formação da placa de ateroma. Retirado e adaptado de Libby (2012).

Todo este processo de formação da placa de ateroma e consequente aterosclerose está intimamente ligada com o aumento de colesterol LDL em circulação no organismo, sendo esta patologia um dos problemas que o aumento de colesterol LDL acarreta. Assim sendo, as estatinas vão aqui ser uma resposta fulcral na diminuição da placa de ateroma, em consequência da diminuição da síntese de colesterol LDL. Porém não é só a nível da formação de colesterol LDL que as estatinas vão actuar para reduzir a incidência desta patologia. Outros mecanismos, como a regulação da parede do endotélio, regulação da inflamação e regulação celular também vão ser importantes contra a aterosclerose.

Os efeitos das estatinas a nível do endotélio vão ser de extrema importância na redução da placa aterosclerótica. Em caso de abundância de colesterol LDL vai ocorrer uma diminuição na formação de óxido nítrico (NO) pelas células endoteliais, devido à diminuição da L-arginina, o substrato da NOS (Stancu & Sima, 2001). Estudos *in vitro* demonstram um claro aumento de formação de NO quando há uma diminuição de colesterol LDL circulante. Também é demonstrado que essa maior formação de NO pode ser independente do colesterol LDL, pois há evidência que as estatinas estimulam a activação do gene eNOS (óxido nítrico sintase endotelial), que vai sintetizar NO nas células endoteliais, e ainda vão proteger esse gene da prenilação proteica proveniente da via do mevalonato (Davignon, 2012; Stancu & Sima, 2001).

A inflamação endotelial é também origem de formação de placas de ateroma, onde as estatinas também demonstram ter um efeito benéfico. Não só a activação do gene eNOS e consequente aumento de produção de NO vão ser benéficos, mas também a nível da redução de células inflamatórias e de moléculas de adesão e agregação. A inibição da ICAM-1 e VCAM-1 faz parte deste mecanismo, assim como referido nos efeitos anti-cancerígenos (Jasinska, Owczarek, & Orszulak-Michalak, 2007). Também é inibida a E-selectina (molécula de adesão específica do endotélio), molécula presente em vários processos inflamatórios do endotélio (Jasinska et al., 2007; Noble, Panayiotidis, Collins, Hoffbrand, & Yong, 1996).

Um indicador clínico de que as estatinas reduzem a inflamação é a diminuição da proteína C reactiva, PCR (proteína plasmática produzida no fígado, indicadora de infecções ou processos inflamatórios sistémicos) (Jasinska et al., 2007).

Como referido, a inflamação do endotélio inicia-se quando se acumulam macrófagos e leucócitos no local de acúmulo lipídico, originando uma adesão dessas células ao endotélio. Estudos indicam que as estatinas inibem a adesão de leucócitos nas células da parede do endotélio, o que vai prevenir a inflamação (Jasinska et al., 2007).

O processo inflamatório também pode ser inibido por acção das estatinas na medida da via de regulação de quimiocinas recrutadoras de leucócitos, diminuindo o aporte de leucócitos para a parede subendotelial. Também vão ser inibidos outros mediadores inflamatórios como a MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) e IL-8 (Jasinska et al., 2007).

Também fazem parte do processo de inflamação as células Th (linfócitos T helper, envolvidos na resposta imunitária), que se dividem, após estimulação imunitária, em dois ramos, os Th1 e Th2. Os Th1 estão envolvidos no processo pro-aterogénico ou inflamatório, enquanto os Th2 funcionam como antagonista dos Th1, participando no processo anti-aterogénico ou anti-inflamatório (Figura 9). As células Th1 estimulam citocinas inflamatórias como IL-2, IL-6, IL-12, IFN- γ e TNF- α . As células Th2 estimulam citocinas anti-inflamatórias como a IL-4, IL-10 IL-5 e TGF- β (*transforming growth factor beta*). Existe evidência que as estatinas vão inibir a acção dos linfócitos Th1 e estimular a acção dos linfócitos Th2 (Arnaud, Brauersreuther, & Mach, 2005; Shovman, Levy, Gilburd, & Shoenfeld, 2002).

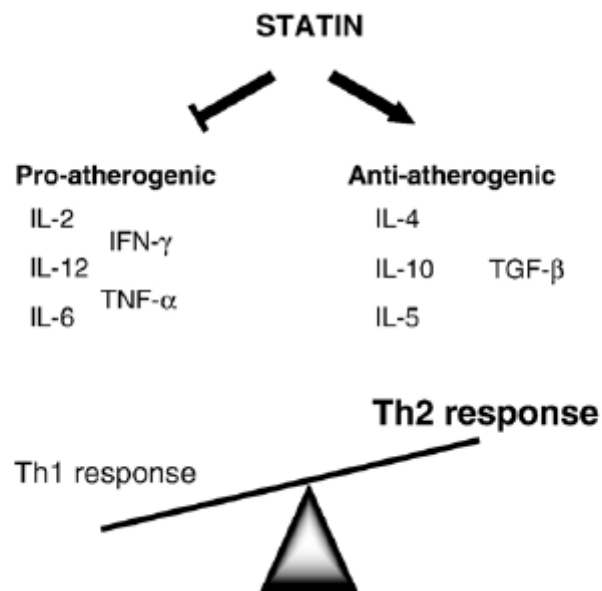


Figura 9. Efeito das estatinas a nível da regulação dos linfócitos Th1 e Th2.

Retirado de Arnaud et al. (2005).

Enzimas degradadoras da matriz endotelial também estão envolvidas na inflamação do endotélio, e há evidência que as estatinas diminuem a expressão dessas enzimas, MMPs (*matrix metalloproteinases*), que estão envolvidas no processo migratório de monócitos e macrófagos. Estão envolvidas nesse processo as MMP-1 e MMP-13 (colagenases intersticiais), MMP-2 e MMP-9 (gelatinases) e MMP-3 (estromelisina), e todas têm a sua expressão diminuída na presença de estatinas (Jasinska et al., 2007).

Um ponto fulcral na aterogénese que origina uma trombose é a agregação plaquetar. Há evidência que as estatinas modulam os factores pró-coagulantes, em caso de ruptura da placa de ateroma, e promovem a fibrinólise (destruição de coágulos de fibrina) através da diminuição da PAI-1 (*plasminogen activator inhibitor 1*) e através do aumento da expressão da tPA (*tissue-type plasminogen activator*) (Jasinska et al., 2007; Stancu & Sima, 2001). Também é diminuída a expressão de outros mediadores inflamatórios envolvidos na trombogénese como a COX-2 (ciclooxygenase 2) e TXA2 (tromboxano A2) (Jasinska et al., 2007).

O colesterol HDL é o tipo de colesterol desejável, uma vez que transporta o colesterol LDL dos tecidos para o fígado, para aí ser degradado. Este tipo de colesterol tem bastante relevância na prevenção e terapêutica da aterosclerose, uma vez que remove o excesso de colesterol LDL que está agregado na parede endotelial e nos monócitos e macrófagos, transportando-o para o fígado. Há também evidência que o colesterol HDL tem propriedades anti-oxidantes do colesterol LDL, prevenindo assim a formação da placa de ateroma (Lusis, 2000). Estudos indicam que as estatinas aumentam os níveis de colesterol HDL em cerca de 10%, sendo mais um ponto relevante na acção das estatinas na aterosclerose (Lardizabal & Deedwania, 2011). Os efeitos anti-ateroscleróticos mencionados anteriormente são resumidos pela Figura 10.

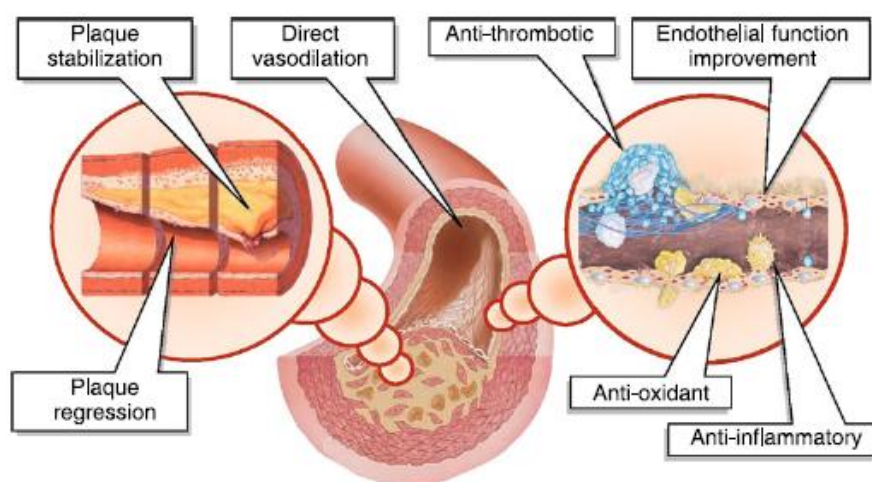


Figura 10. Regressão da placa de ateroma devido ao efeito das estatinas.

Retirado de Lardizabal & Deedwania (2011).

As estatinas são, portanto, uma referência no que à aterosclerose diz respeito, não só pelo facto de a aterosclerose ser formada inicialmente por grande depósitos de lípidos, mas também devido ao grande potencial anti-inflamatório que as estatinas manifestam. Vários estudos foram feitos e vários continuam a ser feitos nesta área, pois as estatinas são uma referência clínica na terapêutica desta patologia, que afecta vários milhões de pessoas em todo o mundo.

6.2. Artrite Reumatóide

A artrite reumatóide é uma patologia auto-imune inflamatória que afectava, em 2007, 2,1 milhões de pessoas nos Estados Unidos da América (Paraskevas, 2008). Como em qualquer doença auto-imune não existe uma cura para esta patologia, apenas se conseguem melhorar os sintomas para que a pessoa afectada consiga obter uma melhor qualidade de vida (McInnes, McCarey, & Sattar, 2004).

As dores características desta patologia são típicas nas articulações sinoviais (articulações do joelho, por exemplo,

Figura 11) (I. M. Khan et al., 2007). As pessoas afectadas pela artrite reumatóide podem ter uma ou várias articulações afectadas, dependendo da severidade da patologia (Royal College of Physicians, 2009).

A etiologia da artrite reumatóide é desconhecida, porém poderá existir uma ligação com a aterosclerose, que poderá desencadear o processo imunológico e inflamatório que está inerente a esta patologia (Paraskevas, 2008; Royal College of Physicians, 2009).

As reacções inflamatórias nas articulações sinoviais vão originar edemas nessas mesmas articulações (aumento de fluido sinovial), devido a uma proliferação da membrana sinovial e aumento do fluxo sanguíneo na articulação, decorrente do processo inflamatório. Este processo vai originar dor, seja na articulação seja no osso a que está acoplada, e vai originar perda muscular local. Enquanto a inflamação não é diminuída, a articulação vai-se deteriorando e a dor aumentando, até o doente perder permanentemente a função normal da articulação, seguida da destruição do osso e cartilagem (Royal College of Physicians, 2009; Tristano & Fuller, 2006).

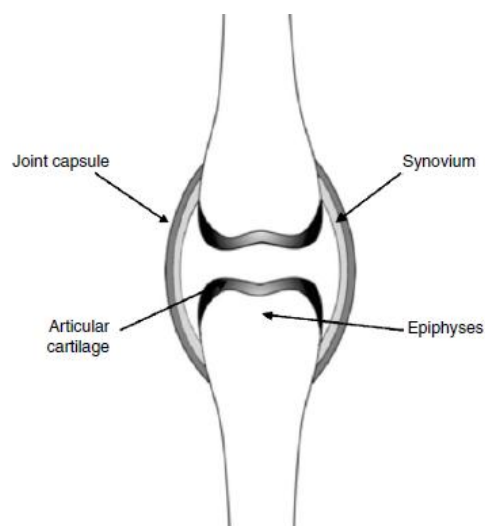


Figura 11. Representação de uma articulação sinovial. Retirado de Khan et al. (2007)

Como referido, a artrite reumatóide poderá ter uma relação com a aterosclerose, pois ambas se desenvolvem a partir de processos inflamatórios sistémicos. Com efeito, há também uma relação entre as doenças cardiovasculares e os doentes que sofrem de artrite reumatóide, uma vez que estes têm alta propensão de sofrer um episódio cardiovascular, independentemente dos outros factores de risco associados (Figura 12) (Paraskevas, 2008).

O processo inflamatório referido anteriormente na aterosclerose é também aqui descrito, uma vez que na inflamação da articulação sinovial podem ser encontrados vários factores pró-inflamatórios como o TNF- α , IL-1 e IL-6, que são mediados devido a uma activação de monócitos ou macrófagos (Bielinska & Gluszko, 2007; Paraskevas, 2008).

Há também no processo inflamatório das articulações sinoviais expressão dos linfócitos Th1, que medeia citocinas inflamatórias como o IFN- γ e IL-2 devido à proliferação de tecido sinovial (McInnes et al., 2004; Paraskevas, 2008).

São vários os estudos que indicam e demonstram os efeitos das estatinas na atenuação do processo inflamatório da artrite reumatóide, na linha do que acontece na aterosclerose.

Estudos *in vitro* indicam que as estatinas inibem a expressão de vários factores pró-inflamatórios na artrite reumatóide, como o TNF- α e as IL-1 e a IL-6 (Tristano & Fuller, 2006).

Outros estudos indicam também que, assim como na aterosclerose, as estatinas diminuem a PCR em circulação, demonstrando o seu efeito anti-inflamatório, uma vez que a produção de PCR está dependente da expressão da IL-6 (Bielinska & Glusko, 2007).

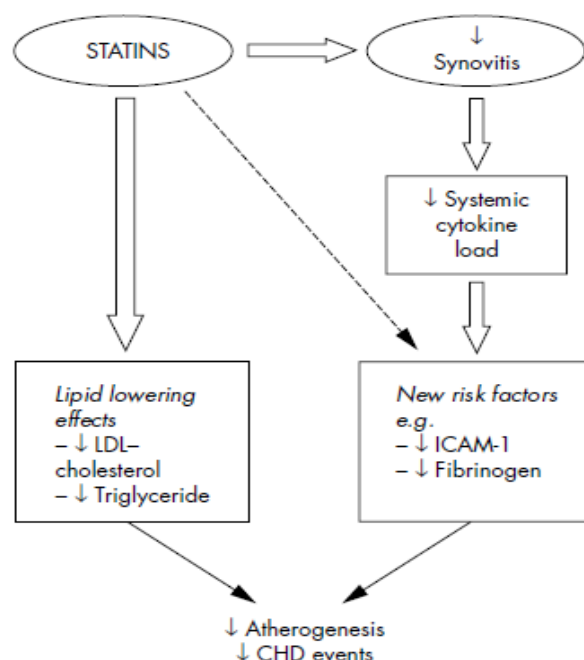


Figura 12. Dupla relação dos efeitos das estatinas da artrite reumatoide. A diminuição do risco cardiovascular e a diminuição dos factores inflamatórios decorrentes da artrite reumatoide. Adaptado e retirado de McInnes, McCarey, & Sattar (2004).

Para além dos já referidos factores pró-inflamatórios responsáveis pela inflamação na artrite reumatóide, também os sinoviócitos ou FLS (*fibroblast-like synoviocytes*) fazem parte do processo inflamatório. Os sinoviócitos desenvolvem-se talvez devido a uma acumulação de células indiferenciadas e vários estímulos desregulados entre morte, sobrevivência e proliferação celular. Essa desregulação vai contribuir para a sobrevivência desses mesmo sinoviócitos, e assim aumentar a inflamação na articulação (Bartok & Firestein, 2010).

Estudos com estatinas lipofílicas demonstram um efeito apoptótico em relação aos sinoviócitos (Bielinska & Glusko, 2007). Outro estudo refere que a fluvastatina exerce também efeito apoptótico nos sinoviócitos, através da via da caspase 3, sendo

esta mais uma demonstração do potencial anti-inflamatório das estatinas na artrite reumatóide (Paraskevas, 2008).

Apesar de só afectar 1% da população mundial, a artrite reumatóide é uma doença auto-imune responsável por morbilidade e mortalidade entre os doentes que sofrem desta patologia, não só em relação à dor articular, como também ao risco cardiovascular que também está inerente à mesma (Bartok & Firestein, 2010). Estudos em relação aos efeitos das estatinas nesta patologia continuam a ser efectuados, no sentido de apurar se uma terapêutica em concomitância com a actual será relevante. Muitos dos estudos foram feitos *in vitro*, porém existem já estudos efectuados em modelos animais e mesmo em humanos com resultados positivos. Mais estudos são portanto necessários a fim de se poder obter uma conclusão assertiva em relação aos efeitos das estatinas na terapêutica da artrite reumatóide.

7. Potencial imunomodelador das estatinas

Tanto na aterosclerose como na artrite reumatóide existem factores imunitários que vão influenciar positivamente a acumulação de linfócitos, monócitos e macrófagos na zona de inflamação, seja no endotélio, seja nas articulações sinoviais. O acúmulo de linfócitos Th1 vai posteriormente resultar numa libertação de factores pró-inflamatórios, como já referido anteriormente; porém as estatinas têm capacidade de diminuir a expressão desses mesmos linfócitos, diminuindo portanto a inflamação. Esse efeito é então denominado de efeito imunomodelador.

A presença de linfócitos Th1 é estimulada pelo complexo de histocompatibilidade major II (MHC-II), que é o regulador da resposta imunitária inata e humoral (Jasinska et al., 2007; Landsverk, Bakke, & Gregers, 2009). Em situações de inflamação sistémica, o IFN- γ vai expressar na sua superfície moléculas da MHC-II, e vai estimular a presença dessas mesmas moléculas noutros factores imunitários, como em macrófagos, sendo essa expressão mediada pelo CIITA (*class II transactivator*), indutor da expressão da MHC-II (Chang, Fontes, Peterlin, & Flavell, 1994; Shovman et al., 2002); o resultado deste estímulo imunitário será então a activação de linfócitos Th1 para o local da inflamação (Abeles & Pillinger, 2006; Jasinska et al., 2007).

Outro processo de activação dos linfócitos Th1 é através do complexo formado pela LFA-1 (*leukocyte function-associated antigen-1*) e o ICAM-1. Este complexo vai ser um forte co-estimulador da resposta imunitária dos Th1 (Abeles & Pillinger, 2006; Anderson & Siahaan, 2003; Jasinska et al., 2007).

Um mecanismo da família proteica Ras também está envolvido na activação dos Th1, nomeadamente a partir da via ERK, resultado da prenilação proteica dessa família. Também um mecanismo dependente da família Rho está envolvido, resultando na activação de Th1 através da proteína kinase p38 (Abeles & Pillinger, 2006).

Evidências sugerem que as estatinas vão inibir todos estes processos imunitários, resultado assim no seu efeito imunomodelador. A expressão de moléculas da MHC-II induzida pelo IFN- γ em, por exemplo, macrófagos, vai ser reduzida, devido à diminuição da activação da expressão do CIITA (Figura 13) (Abeles & Pillinger, 2006; Palanski, 2000; Shovman et al., 2002)

Os processos relacionados com as famílias Ras e Rho, também envolvidos na activação de Th1 devido a prenilação, são também inibidos; estudos efectuados com sinvastatina demonstram esse efeito, directamente ligado a inibição da via do mevalonato (Abeles & Pillinger, 2006).

A co-estimulação imunitária resultante da LFA-1/ICAM-1 vai também ser inibida; estudos efectuados com lovastatina demonstram que esta se liga à LFA-1, inibindo o seu efeito (Abeles & Pillinger, 2006; Jasinska et al., 2007).

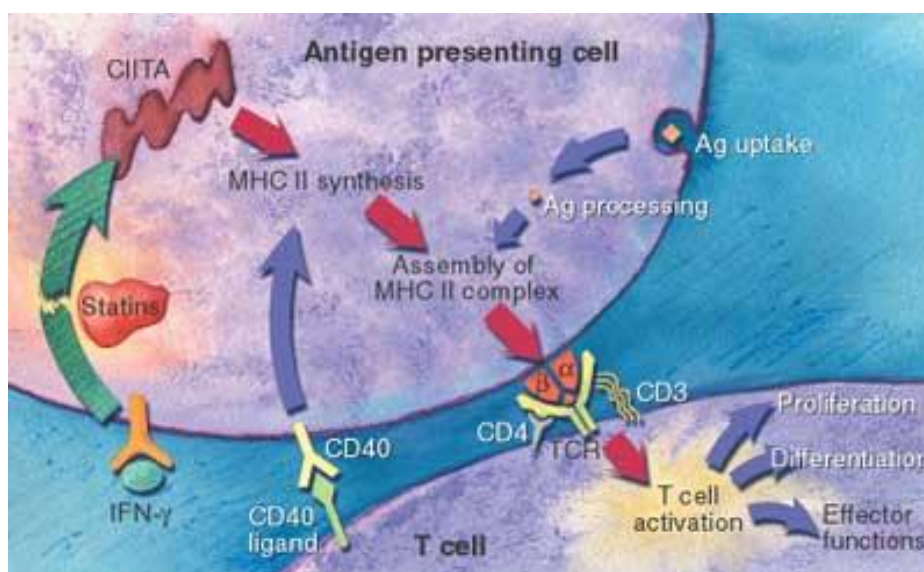


Figura 13. Inibição da expressão de moléculas de MHC-II em factores imunitários induzida pelas estatinas. Retirado de Palanski (2000)

Todo este potencial imunomodulador das estatinas poderá ter grande aplicação clínica, nomeadamente em doenças auto-imunes (como por exemplo na artrite reumatóide, já descrita, ou na esclerose múltipla) e na prevenção da rejeição de transplantes.

Diminuição na rejeição de transplantes renais foi demonstrado num estudo com pravastatina, o mesmo se passando em transplantes cardíacos (McInnes et al., 2004).

Melhorias a nível da esclerose múltipla foram também demonstrados, com diminuição da lesão na bainha de mielina, num estudo realizado com sinvastatina (McInnes et al., 2004; Stuve et al., 2004). Foi também demonstrado uma diminuição de

monócitos e linfócitos na barreira hemato-encefálica, efeito potencialmente induzido pelas estatinas (Mihos & Santana, 2011).

O efeito imunomodulador das estatinas tem reconhecidamente um potencial clínico no que refere a doenças auto-imunes e transplantes, uma vez que regula o sistema imunitário, prevenindo o ataque e a agregação de factores inflamatórios em certas patologias e transplante de órgãos. Porém muitos dos efeitos demonstrados a este nível foram efectuados em estudos *in vitro*, e carecem de mais estudos em modelos humanos. As doenças auto-imunes são patologias sem resolução terapêutica, onde apenas se podem regular os sintomas. Os estudos até agora efectuados em relação a esta temática demonstram que no futuro as estatinas poderão constituir uma nova linha terapêutica viável a nível dos sintomas; economicamente também seria bastante vantajoso, uma vez que os actuais custos de terapêuticas para as patologias auto-imunes são bastante elevados.

8. Efeito anti-osteoporótico das estatinas

A osteoporose é uma patologia óssea que afecta tanto homens como mulheres, sendo mais comum em mulheres e muito comum em mulheres pós-menopáusicas. É caracterizada por uma diminuição de massa e densidade óssea, causando fragilidade e alteração na microarquitetura do osso, deixando-o susceptível a fracturas (Figura 14) (American Society for Bone and Mineral Research, 1986; Tsartsalis et al., 2012)

A osteoporose pode resultar de vários factores: pode resultar de uma baixa resposta de formação óssea quando há um excesso de reabsorção, quando há diminuição da massa óssea durante o crescimento ou quando há uma grande reabsorção, que vai originar fragilidade óssea e fracturas (Raisz, 2005).

Toda a regulação da actividade óssea, como a absorção ou produção de massa óssea, é feita a partir dos osteoclastos (reabsorção) e osteoblastos (produção). É esta interação que vai definir uma maior ou menor reabsorção e produção óssea, remodelação que vai ser regulada pela via da RANKL/OPG (Raisz, 2005).

RANKL (*Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*) é uma proteína produzida pelos osteoblastos e vai ser o ligando para a RANK (*Receptor Activator of Nuclear Factor κ B*, proteína membranária) cujo complexo vai activar a NF- κ B (complexo proteico responsável por factores de activação celular) que vai assim activar, regular e manter a actividade dos osteoclastos (Baldwin, 1996; Boyce & Xing, 2007; Raisz, 2005).

Porém, os osteoblastos produzem também a OPG (osteoprotegerina) proteína que se vai ligar à RANKL, inibindo a ligação desta à RANK, diminuindo assim a expressão dos osteoclastos e diminuindo a reabsorção óssea. Na osteoporose há um aumento da expressão da via da RANK/RANKL e diminuição da OPG, o que é coerente com o aumento de reabsorção óssea e enfraquecimento ósseo (Raisz, 2005).

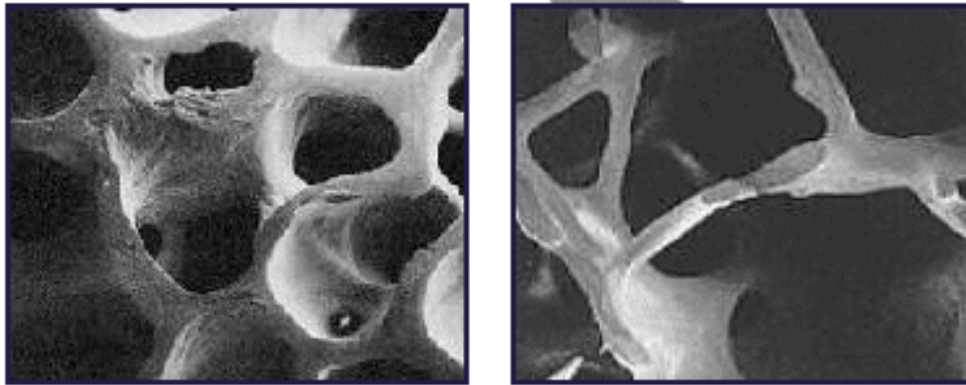


Figura 14. Comparação de densidade óssea de um osso normal e um osso com osteoporose. À esquerda a densidade óssea de um osso normal e à direita uma grande quebra na densidade óssea, reveladora de osteoporose. Retirado e adaptado de American Society for Bone and Mineral Research (1986)

Também implicada na via de remodelação óssea está a superfamília TGF- β , família proteica de factores de crescimento onde se encontra a BMP-2 (*Bone morphogenetic protein 2*), proteína que está envolvida no desenvolvimento do osso e cartilagem. Vários polimorfismos a nível destas proteínas de crescimento ósseo têm sido reportados em casos de osteoporose (Derynck, Akhurst, & Balmain, 2001; Raisz, 2005; van Beuningen, Glansbeek, van der Kraan, & van den Berg, 1998).

O NO, já referenciado anteriormente, é também um inibidor da reabsorção óssea, através da produção de OPG (Raisz, 2005).

O tratamento de primeira linha para a osteoporose são os bifosfonatos, que actuam na cascata do mevalonato, a nível da farnesil difosfato sintase, inibindo assim o processo osteoclástico. Vários estudos demonstram que com o aumento da farnesil pirofosfato diminui a expressão dos osteoblastos, e será a este nível que as estatinas indirectamente vão aumentar a actividade dos osteoblastos, inibindo também a expressão da farnesil pirofosfato (Ruan, Zheng, & Wang, 2012; Tsartsalis et al., 2012).

As estatinas podem portanto ter um papel relevante na prevenção da osteoporose, pois actuam na mesma cascata que os bifosfonatos, numa altura mais precoce (Tsartsalis et al., 2012).

Vários estudos foram efectuados com a finalidade de testar o potencial das estatinas na osteoporose. Existe larga evidência que as estatinas têm potencial de estimulação dos osteoblastos e inibição dos osteoclastos, exercendo uma acção anabólica a nível dos ossos (Tsartsalis et al., 2012).

A acção das estatinas a nível dos factores de crescimento ósseo foi também reportada em vários estudos, em que foi reportado o aumento de TGF- β e daí o aumento da expressão génica da BMP-2 (Tsartsalis et al., 2012). A actividade anti-apoptótica dos osteoblastos, que advém da maior expressão da TGF- β tem também um efeito anabólico ósseo (Ruan et al., 2012).

A inibição da actividade osteoclástica foi demonstrada experimentalmente, com a supressão da RANK, principal precursor da actividade osteoclástica. (Tsartsalis et al., 2012)

Foi também demonstrado o aumento da expressão de outros genes importantes no aumento da actividade dos osteoblastos e da formação óssea, como o gene da osteocalcina (proteína presente nos ossos), que é um regulador da actividade dos osteoblastos e regulador da mineralização óssea, assim como tem actividade anabólica (Neve, Corrado, & Cantatore, 2013; Tsartsalis et al., 2012).

Outros estudos indicam também que as estatinas poderão ter um efeito sinérgico e concomitante com a actual terapêutica contra a osteoporose, onde foi manifestado um claro aumento da densidade mineral óssea, sendo mais uma evidência acerca do eventual potencial das estatinas na osteoporose (Mihos, Artola, & Santana, 2012).

Vários são os estudos que demonstram o potencial anti-osteoporótico que as estatinas possuem, quer a nível da inibição osteoclástica quer a nível da formação óssea. Porém, a grande parte desses estudos foi feita quer *in vitro* quer em modelos animais, o que pode não demonstrar conclusões reais em humanos. Muitas das experiências foram também feitas com doses de estatinas superiores ao recomendado terapêuticamente, o que também poderá demonstrar outro tipo de conclusões. Várias investigações continuam no sentido de chegar a um consenso alargado acerca do potencial das estatinas na osteoporose, para que se possa encontrar mais uma terapêutica para esta patologia que afecta milhões de pessoas em todo o mundo (Tsartsalis et al., 2012)

9. Efeito anti-hipertensor das estatinas

A hipertensão define-se como o aumento da pressão arterial sanguínea. Deste aumento de pressão arterial resultam várias consequências, como doenças cardiovasculares e aterosclerose, precursor de trombozes e enfartes agudos do miocárdio. Outras patologias associadas à hipertensão são cegueira, falência renal ou ruptura endotelial (WHO, 2013).

A hipertensão afecta cerca de 1 bilião de pessoas em todo o mundo e é responsável por um elevado número de mortes todos os anos. É considerada como uma patologia silenciosa porque não demonstra quaisquer sintomas numa fase inicial da doença, e quando se começam a manifestar poderá já ser tarde para prevenir as complicações que desta patologia advêm (WHO, 2013).

A hipertensão não tem uma etiologia concisa, uma vez que resulta de vários factores que mais tarde irão originar a doença. Factores como o tabagismo, grande consumo de sal e gorduras, sedentarismo e pouca prática de exercício físico, bem como abuso de álcool são preponderantes no desenvolvimento de uma hipertensão. Existem ainda outros factores como a predisposição genética e meio socio-cultural que poderão também influenciar uma maior propensão de desenvolver esta patologia (Figura 15).

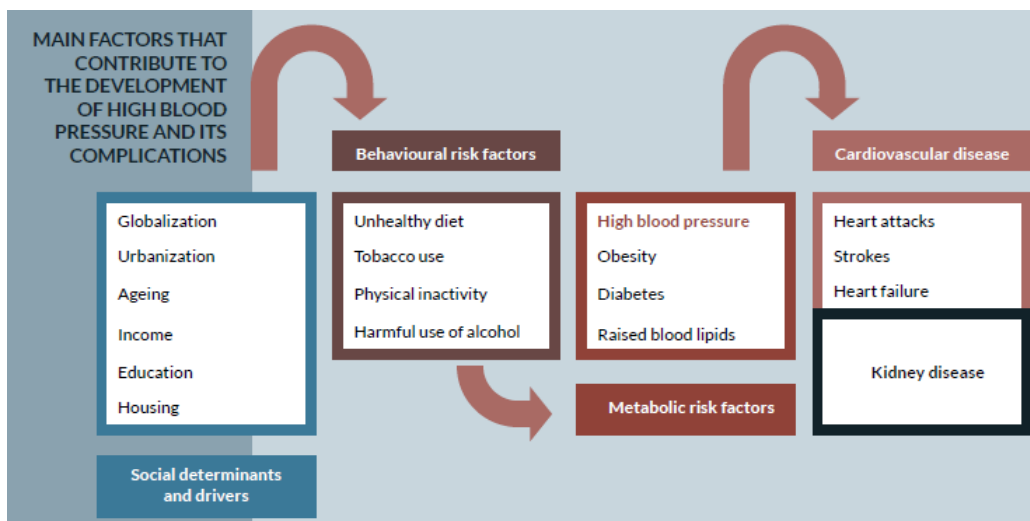


Figura 15. Resumo da cadeia da relação entre factores de risco de hipertensão, hipertensão e patologias relacionadas com a hipertensão. Retirado de WHO (2013)

Fisiologicamente a pressão arterial é regulada por três factores, como a função cardíaca, excreção renal de sódio e tónus vascular. A nível da excreção de sódio e aumento da volémia será o sistema renina-angiotensina-aldosterona o mecanismo que o vai regular, sendo este mecanismo de extrema importância na regulação da pressão arterial (Gradman, Basile, Carter, Bakris, & American Society of Hypertension Writing, 2011).

Em situações de hipotensão é libertada renina, enzima que vai hidrolisar e formar a angiotensina I a partir do angiotensinogénio. A angiotensina I é então hidrolisada, pela enzima conversora da angiotensina I, para angiotensina II. A angiotensina II vai então estimular a secreção de aldosterona (Atlas, 2007).

A angiotensina II vai ser responsável por vários processos de vasoconstrição bem como de absorção de sódio a nível renal. Para que tais processos aconteçam, a angiotensina vai ter que se acoplar aos seus receptores, que vão então despoletar os processos descritos. Um dos principais receptores da angiotensina II é o AT1 (*angiotensin II type I*), e o resultado dessa ligação vai ser não só a descrita vasoconstrição e absorção de sódio, mas também vai originar crescimento celular, implicação na regulação de electrólitos e água e também pode estar envolvida no processo de inflamação sistémico (Benigni, Cassis, & Remuzzi, 2010; Jasinska et al., 2007; Suzuki et al., 2003).

Os inibidores dos receptores da angiotensina II são já uma classe de fármacos utilizados na hipertensão, porém também as estatinas podem ter algum efeito, ao diminuir a expressão da AT1. Vários estudos indicam que o aumento do colesterol LDL aumenta a expressão da AT1, sendo que com a diminuição deste, devido ao efeito das estatinas, vai diminuir consequentemente a expressão desse receptor (Jasinska et al., 2007).

Também o aumento da biodisponibilidade do NO devido ao aumento de eNOS, já descrito anteriormente, através da diminuição do colesterol LDL, é um efeito que vai influenciar positivamente o efeito anti-hipertensor, na medida em que vai promover o relaxamento endotelial e a vasodilatação (Andrade et al., 2013; Junior et al., 2013; Kamberi et al., 2012).

Outro efeito anti-hipertensor descrito é a redução dos níveis de endotelina-1, potente vasoconstritor (fisiologicamente serve de “antagonista” do NO), que pode estar

desregulado em situações de hipertensão (Briasoulis, Agarwal, Valachis, & Messerli, 2013).

Estudos indicam que poderá existir um efeito sinérgico entre os efeitos das estatinas e os efeitos dos inibidores da enzima de conversão da angiotensina (grupo de fármacos utilizados no controle da hipertensão), resultando numa maior baixa da pressão arterial (Jasinska et al., 2007).

São vários os estudos efectuados na área dos efeitos das estatinas na hipertensão, e existe evidência que as estatinas exercem algum efeito anti-hipertensor; porém muitos deles carecem de mais dados ou foram feitos em condições muito limitadas, o que condiciona muito as conclusões. Existe também uma clara relação entre as estatinas e a redução da pressão arterial, no sentido da diminuição de patologias associadas à hipertensão, como a patologia cardíaca, o que também pode ser explicado pelos outros efeitos que as estatinas exercem, como por exemplo, na aterosclerose. Mais estudos são requeridos acerca desta temática, uma vez que a hipertensão é uma patologia que afecta vários milhões de pessoas em todo o mundo, e é responsável por muitas causas de morbilidade e mortalidade.

10. Efeito terapêutico das estatinas na doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer é uma patologia demencial que constitui cerca de 70% de todos os casos de demência, afectando em 2010 cerca de 15 milhões de pessoas em todo o mundo (Castellani, Rolston, & Smith, 2010).

A doença de Alzheimer afecta pessoas com idade avançada, sendo que a sua incidência aumenta quanto maior a idade da pessoa. A etiologia desta patologia é ainda pouco conhecida, mas há evidência de factores que podem aumentar a probabilidade de um indivíduo desenvolver Alzheimer, tais como doença vascular (colesterol), hereditariedade genética (ApoE ϵ 4) ou traumatismos a nível cerebral (Castellani et al., 2010; Puglielli, Tanzi, & Kovacs, 2003).

Os sintomas da doença de Alzheimer são a perda gradual de memória, alterações de personalidade e diminuição cognitiva (Puglielli et al., 2003).

As placas senis (grandes depósitos de β -amilóide (Figura 16) nos vasos sanguíneos da zona cinzenta do cérebro) são sempre encontradas em doentes de Alzheimer, e estão associados a lesão axonal e dendrítica, devido à citotoxicidade da β -amilóide; com efeito, este é um dos sinais clássicos desta patologia (Castellani et al., 2010; DeKosky, 2005; Puglielli et al., 2003; Selkoe, 2001). Também são comuns os depósitos de NFTs (*neurofibrillary tangles*), resultado de uma desregulação no metabolismo da proteína *tau*, que vai originar morte celular (DeKosky, 2005). Porém, são os grandes depósitos de β -amilóide que se pensa serem os grandes responsáveis pela doença de Alzheimer, à parte dos factores de risco (Rajendran et al., 2006).

A β -amilóide é um péptido cujo mecanismo fisiológico ainda não é bem compreendido, e é sintetizada a partir da proteólise da APP (*amyloid precursor protein*) (O'Brien & Wong, 2011). Existem evidências que sugerem que poderá existir uma ligação entre os altos níveis de colesterol plasmático e uma maior incidência de Alzheimer. Estudos em animais demonstraram que uma dieta rica em colesterol aumentou a APP e a β -amilóide nos cérebros desses animais (Puglielli et al., 2003).

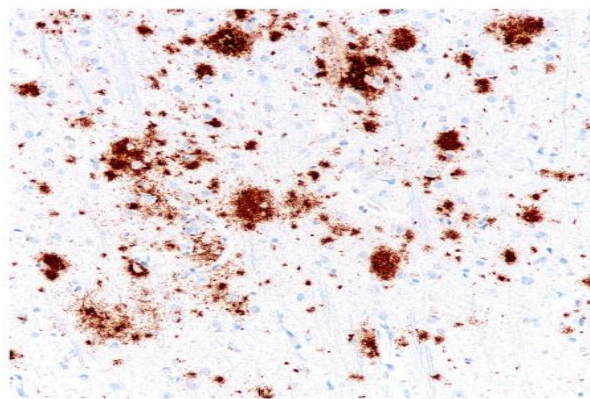


Figura 16. Depósitos de β -amilóide no córtex cerebral de um doente com Doença de Alzheimer.

Retirado de Castellani et al. (2010).

O mecanismo para a correlação entre o colesterol e a APP/ β -amilóide ainda não é bem conhecido. Porém outros estudos demonstram forte evidência entre os altos níveis de colesterol LDL e uma maior deposição de β -amilóide no cérebro. A conclusão seria que altos níveis de colesterol LDL aumentam a APP e consequentemente os níveis de β -amilóide, e uma redução nos níveis de colesterol LDL iriam diminuir a síntese de β -amilóide, por diminuição da função da APP (Puglielli et al., 2003).

Foi também demonstrado que a isquémia cerebral pode aumentar a síntese de β -amilóide, devido a um aumento da expressão da APP (DeKosky, 2005).

Outro dos factores de risco de desenvolver doença de Alzheimer é o facto de a ApoE (proteína envolvida no processo de transporte de colesterol para o cérebro) expressar um determinado alelo que está envolvido numa maior incidência desta patologia. O alelo referido é o $\epsilon 4$, sendo este herdado geneticamente (Puglielli et al., 2003).

Vários estudos demonstram que esta particularidade na ApoE aumenta a deposição de resíduos de β -amilóide no cérebro, chegando mesmo esse processo a ser dependente da ApoE. Foi também demonstrado que a ausência de ApoE apenas vai diminuir a deposição de β -amilóide no cérebro, mas não vai impedir a sua síntese (Puglielli et al., 2003).

As conclusões entre a relação do colesterol LDL e a β -amilóide abriram portas à investigação da relação entre as estatinas e o Alzheimer.

Os efeitos das estatinas em relação à diminuição do colesterol poderão explicar a diminuição de incidência de Alzheimer, devido aos mecanismos envolvidos na

deposição de β -amilóide no cérebro. Porém outros mecanismos, como o aumento de NO poderão estar envolvidos (DeKosky, 2005). Doentes com Alzheimer demonstraram ter a perfusão sanguínea diminuída no cérebro, sendo que o NO, promovendo a vasodilatação, vai melhorar a perfusão sanguínea cerebral (Jick, Zornberg, Jick, Seshadri, & Drachman, 2000).

O objectivo da terapêutica para o Alzheimer é o atraso dos eventuais sintomas demenciais, e existe alguma evidência que as estatinas possam reduzir e atrasar esta patologia.

Um estudo indica que a formação de β -amilóide foi completamente inibida após tratamento com lovastatina (DeKosky, 2005).

Outro estudo revelou uma diminuição de 74% do risco de desenvolver Alzheimer em consumidores de estatinas, quando comparados com não consumidores de estatinas. Outro estudo comparativo demonstrou que as estatinas reduzem em aproximadamente 70% o risco de desenvolver doença de Alzheimer, em comparação com não consumidores de estatinas ou consumidores de outros fármacos redutores do colesterol (Puglielli et al., 2003).

Outros estudos foram direccionados a fim de demonstrar causalidade entre as estatinas e o decréscimo da incidência de Alzheimer. Foi demonstrada uma redução de 38% em consumidores de estatinas que começaram o tratamento com menos de 80 anos. Várias outras comparações demonstram um menor risco de desenvolver esta patologia em consumidores de estatinas com grupos controlo (Mihos & Santana, 2011).

Todos estes estudos reportam resultados animadores na diminuição da incidência do Alzheimer, no que diz respeito às estatinas. A doença de Alzheimer, patologia demencial sem qualquer cura definitiva, poderá ter nas estatinas um novo fôlego em busca de uma terapêutica mais sólida. Porém os estudos até agora efectuados são quase sempre observacionais, e não contemplam muitos factores que poderão influenciar as conclusões. Mais estudos neste sentido são necessários, uma vez que as estatinas demonstram um potencial promissor para uma terapêutica mais próxima de ser definitiva para a doença de Alzheimer.

11. Outros efeitos pleiotrópicos das estatinas

Todos os efeitos das estatinas descritos anteriormente nesta monografia são os mais descritos e os que mais forte evidência têm na literatura.

Existem outros efeitos que as estatinas possuem, noutras patologias, em que há alguma evidência do seu efeito benéfico, porém ainda não se chegaram a conclusões fortes acerca dos mesmos.

11.1. Asma

A asma é uma patologia de etiologia inflamatória, em que as vias aéreas dos doentes afectados demonstram grande inflamação, decaindo assim a sua capacidade respiratória (Barnes, 1996).

Células responsáveis pela inflamação e edema são comuns nesta patologia, com grande aporte de mediadores inflamatórios (eosinófilos e linfócitos) nas vias aéreas dos doentes afectados (Barnes, 1996).

As estatinas, reconhecidos agentes anti-inflamatórios, podem ser uma possível terapêutica de controlo para a asma. Há evidência que sugere a diminuição de células inflamatórias, como os eosinófilos e outros mediadores de inflamação, em modelos animais com asma (Yuan et al., 2012).

Outros estudos sugerem que as estatinas podem aumentar o potencial anti-inflamatório dos corticosteróides inalados, terapêutica de primeira linha na redução dos sintomas de asma (Yuan et al., 2012).

Um estudo observacional demonstrou que o consumo de estatinas entre doentes asmáticos levou a uma redução de 30% de emergências hospitalares relacionadas com essa patologia (Mihos & Santana, 2011).

Apesar de existirem alguns estudos que sugerem a influência positiva das estatinas na asma, conclusões acerca desse facto ainda são ténues. Existem estudos contraditórios, que não demonstram qualquer efeito das estatinas na asma, e existem ainda muitos estudos em animais, sendo necessário transpor esses mesmos estudos para

modelos humanos. Porém, sendo a asma uma patologia inflamatória, é legítimo supor que os já demonstrados efeitos anti-inflamatórios das estatinas poderão ter alguma influência nesta patologia, que permanece até hoje sem uma cura definitiva.

11.2. Hepatite viral

O vírus da hepatite C (VHC) é agente etiológico de uma patologia infecciosa com o mesmo nome que afectava, em 2009, cerca de 180 milhões de pessoas em todo o mundo (Ghany, Strader, Thomas, Seeff, & American Association for the Study of Liver, 2009).

Existe alguma evidência de que as estatinas poderão diminuir a replicação viral do vírus da hepatite C, talvez devido ao facto de, para entrar nos hepatócitos e causar virulência, o vírus necessite de factores provenientes da via do mevalonato e do colesterol, inibido pelas estatinas (Cortes-Bergoderi et al., 2013).

Um estudo observacional reporta o aumento da resposta à terapêutica anti-viral em doentes que previamente tinham consumido estatinas (Cortes-Bergoderi et al., 2013).

Os estudos das estatinas relativamente ao seu potencial contra o VHC ainda são precoces e com conclusões ténues, porém poderão constituir, no futuro, um avanço na terapêutica da HCV, actualmente sem cura conhecida.

11.3. Vírus *Influenza*

O vírus *influenza*, ou vírus da gripe, é um agente patogénico responsável por grande morbidade e mortalidade, sendo que também é um dos vírus mais comuns em todo o mundo (Taubenberger & Morens, 2008).

Uma das manifestações mais graves do vírus da gripe é a pneumonia, caracterizada por uma inflamação pulmonar; a bronquite e alveolite são também condições graves inflamatórias que poderão advir da infeção pelo vírus *influenza*

(Taubenberger & Morens, 2008). Os efeitos anti-inflamatórios das estatinas podem ter alguma influência na diminuição de pneumonias relacionadas com o vírus da gripe.

Existe alguma evidência relativa à relação das estatinas e a protecção contra este vírus. Estudos demonstram uma diminuição de 8% de hospitalizações relacionadas com pneumonias derivadas da gripe, entre consumidores de estatinas. Outro estudo reporta uma diminuição de 40% de mortes relacionadas com pneumonias derivadas do vírus *influenza*, em doentes que previamente tomavam estatinas (Mihos & Santana, 2011).

São poucos os estudos que fazem a ligação entre as estatinas e um possível efeito protector contra o vírus *influenza*. Muitos dos estudos existentes são observacionais, revelando uma necessidade de serem efectuados mais estudos acerca desta temática, a fim de se concluir com certezas mais absolutas a relação entre as estatinas e a sua acção no vírus da gripe.

11.4. Doença de Parkinson

A doença de Parkinson é uma patologia neurodegenerativa, caracterizada por uma perda de neurónios dopaminérgicos na substância nigra, que vai originar uma série de sintomas como tremor, bradicinesia e rigidez muscular nos doentes que sofrem desta doença (Dauer & Przedborski, 2003; Politis et al., 2010).

Há alguma evidência que relaciona as estatinas e a diminuição da incidência desta patologia, devido aos efeitos anti-inflamatórios que as estatinas possuem (Becker, Jick, & Meier, 2008). Um estudo em ratos com Parkinson, tratados com sinvastatina e pravastatina, demonstrou uma neuroprotecção a nível dos neurónios dopaminérgicos e consequentes melhorias a nível motor. Outro estudo demonstrou uma diminuição de 63% da propensão de desenvolver Parkinson, entre consumidores de estatinas há pelo menos 5 anos (Mihos & Santana, 2011).

A relação entre as estatinas e a doença de Parkinson necessita de mais estudos para concluir se estas diminuem ou não a incidência desta patologia. Os estudos existentes em animais, ou observacionais em humanos, ainda não revelam conclusões exactas acerca da relação entre as estatinas e o Parkinson, existindo mesmo estudos contraditórios acerca de um potencial benéfico das estatinas nesta patologia.

11.5. Protecção de órgãos

As estatinas poderão funcionar como possíveis protectores de alguns órgãos, como o coração, cérebro e rins.

Em relação ao cérebro, há evidência de uma redução de problemas neuronais relacionados com isquémia, num estudo em animais tratados com pitavastatina. Esse pode ser um efeito derivado da diminuição da expressão da NF- κ B. Outros estudos demonstram que as estatinas diminuem o risco de trombose cerebral devido ao aumento do fluxo sanguíneo nesse órgão (Davignon, 2012).

Em relação aos rins, um estudo indica que a pitavastatina aumenta a produção de NO, pois diminui a expressão de um mecanismo inibitório do eNOS, em ratos diabéticos. Outro estudo refere o aumento da taxa de filtração glomerular em doentes renais crónicos, em dois anos de consumo de estatinas (Davignon, 2012).

No que diz respeito ao coração, há evidência que a pitavastatina leva a uma diminuição no stress oxidativo e a um aumento da expressão do eNOS, o que vai melhorar a função ventricular em corações de ratos. Outro estudo demonstrou que essa mesma estatina, num ano de tratamento, melhorou a função ventricular e reduziu a rigidez arterial em humanos (Davignon, 2012).

As estatinas demonstraram, em vários estudos, o seu efeito de protecção de órgãos, como os referidos. A evidência acerca desse efeito das estatinas é forte, porém seriam desejáveis mais estudos, particularmente em modelos humanos.

12. Conclusão

As estatinas, classe de fármacos de primeira linha contra a hipercolesterolémia, demonstraram que não é só na redução do colesterol LDL plasmático que vão actuar, mas também demonstraram um efeito benéfico nas mais variadas patologias. Esses efeitos benéficos, para além da redução do colesterol LDL, são chamados de efeitos pleiotrópicos das estatinas, e cada vez mais são alvo de estudo na procura de novas terapêuticas para as mais diversas patologias.

A formação do colesterol só ocorre quando a enzima HMGR tem acção e reduz a HMG-CoA em mevalonato, dando-se início a via do mevalonato. As estatinas, inibindo essa enzima limitante, vão parar essa via e diminuir a formação de colesterol LDL.

Porém, a via do mevalonato demonstrou que não é só na formação do colesterol que vai ter importância. Vários dos seus produtos vão estar envolvidos em processos metabólicos; com efeito, são alguns desses processos metabólicos estão ligados ao desenvolvimento de algumas patologias.

A prenitação proteica derivada de enzimas da via do mevalonato é um processo metabólico importante, na medida em que mutações a nível de proteínas de sinalização estão na origem das mais variadas patologias oncológicas.

Prenitação a nível da superfamília Ras, nomeadamente a mutação nas famílias Ras e Rho vão ter relevância no desenvolvimento cancerígeno, uma vez que essas famílias estão ligadas a processos de diferenciação, sobrevivência, agregação e invasão celular, e quando mutadas aumentam as capacidades referidas, originando vários tipos de doença oncológica. As estatinas revelaram ser óptimos agentes anti-cancerígenos, uma vez que inibem não só a prenitação proteica, derivada da inibição da via do mevalonato, ou mesmo a inibição das referidas famílias proteicas, diminuindo assim o risco de desenvolver cancros derivados de mutações dessas famílias de proteínas.

Outros mecanismos como a activação das caspases, ou inibição de várias citocinas inflamatórias (interleucinas e factores tumorais) e inibição de mediadores de sobrevivência celular vão ser também preponderantes no efeito das estatinas no cancro. A inibição de vias de sinalização celular como a PI3K/Akt/mTOR ou ras/MEK/ERK

vão aumentar o potencial apoptótico das estatinas, outro efeito na redução da proliferação celular.

Na aterosclerose, precursora de doenças cardiovasculares, as estatinas vão ter um efeito bastante benéfico, nomeadamente na redução das placas de ateroma e redução da inflamação endotelial. Ao diminuir o colesterol vai ocorrer um aumento de NO, bastante importante na homeostase do endotélio. Os factores inflamatórios que estão presentes na aterosclerose vão ser inibidos pelas estatinas. Assim, vai também ser diminuído o aporte de mediadores imunológicos que estão inerentes à inflamação, como os monócitos, macrófagos e leucócitos. Outros factores de agregação e de trombogénese são também inibidos, diminuindo a propensão de um episódio trombogénico.

O efeito anti-inflamatório das estatinas é um dos efeitos pleiotrópicos mais benéficos que estas possuem. Este efeito é bastante útil em patologias de inflamação sistémica, como na artrite reumatóide. Porém, também o seu efeito imunomodulador é bastante relevante, pois pode ser útil como adjuvante de terapêuticas para doenças auto-imunes. A inibição do MHC-II e de todos os factores imunológicos que daquele complexo advêm pode ser bastante importante no futuro de várias patologias auto-imunes, que ainda hoje permanecem sem uma terapêutica definitiva.

A acção das estatinas a nível da osteoporose é também de grande interesse clínico. A regulação da actividade dos osteoclastos e dos osteoblastos, a partir da via RANKL/OPG e da via RANK/RANKL é de grande relevância. Também a acção na TGF- β , BMP-2 e mesmo no já referido NO são efeitos reguladores das estatinas na massa óssea.

Em relação à hipertensão, a diminuição do colesterol vai diminuir a expressão da AT1, diminuindo assim a acção da angiotensina II, diminuindo a pressão arterial. Acção na diminuição a nível da endotelina-1 e também no aumento do NO são efeitos benéficos das estatinas na hipertensão.

A diminuição do colesterol plasmático revelou também ter um efeito benéfico a nível da diminuição da incidência da doença de Alzheimer, uma vez que a expressão da APP parece estar ligada com os grandes níveis de colesterol LDL. Assim sendo, com a diminuição do colesterol LDL, há uma consequente diminuição da expressão da APP e uma diminuição a nível dos depósitos de β -amilóide a nível cerebral, diminuindo a propensão de desenvolver doença de Alzheimer. Mais uma vez o aumento de NO

induzido pelas estatinas vai ter um efeito benéfico nesta patologia, devido ao aumento da perfusão sanguínea a nível cerebral.

Outros efeitos pleiotrópicos foram demonstrados noutros tipos de patologias, como na asma, alguns vírus (hepatite C e *influenza*), ou mesmo na doença de Parkinson. Também a nível da protecção de órgãos há relatos dos efeitos benéficos das estatinas.

São muitos os efeitos pleiotrópicos que foram demonstrados em vários estudos e ensaios pelas estatinas. Porém alguns desses efeitos ainda carecem de uma maior validade, uma vez que muitos desses efeitos são reportados a nível de estudos observacionais, em modelos animais ou *in vitro*.

Sendo que é já reconhecido o potencial das estatinas nas mais variadas patologias extra colesterol, seria de grande interesse clínico aumentar a investigação neste sentido, pois as estatinas poderão constituir, no futuro, um importante marco a nível da terapêutica de outras patologias parcialmente ou não relacionadas com o colesterol, devido aos seus numerosos efeitos benéficos demonstrados.

Bibliografia

- Abe, I. (2007). Enzymatic synthesis of cyclic triterpenes. *Nat Prod Rep*, 24(6), 1311-1331. doi: 10.1039/b616857b
- Abeles, A. M., & Pillinger, M. H. (2006). Statins as antiinflammatory and immunomodulatory agents: a future in rheumatologic therapy? *Arthritis Rheum*, 54(2), 393-407. doi: 10.1002/art.21521
- Adams, J. M., & Cory, S. (1998). The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science*, 281(5381), 1322-1326.
- Adams, S. P., Tsang, M., & Wright, J. M. (2012). Lipid lowering efficacy of atorvastatin. *Cochrane Database Syst Rev*, 12, CD008226. doi: 10.1002/14651858.CD008226.pub2
- American Society for Bone and Mineral Research. (1986). Retirado de: www.cdc.gov/nutrition/everyone/basics/vitamins/calcium.html.
- Anderson, M. E., & Siahaan, T. J. (2003). Targeting ICAM-1/LFA-1 interaction for controlling autoimmune diseases: designing peptide and small molecule inhibitors. *Peptides*, 24(3), 487-501.
- Andrade, V. L., Sertorio, J. T., Eleuterio, N. M., Tanus-Santos, J. E., Fernandes, K. S., & Sandrim, V. C. (2013). Simvastatin treatment increases nitrite levels in obese women: modulation by T(-786)C polymorphism of eNOS. *Nitric Oxide*, 33, 83-87. doi: 10.1016/j.niox.2013.07.005
- Arnaud, C., Braunersreuther, V., & Mach, F. (2005). Toward immunomodulatory and anti-inflammatory properties of statins. *Trends Cardiovasc Med*, 15(6), 202-206. doi: 10.1016/j.tcm.2005.07.002
- Atlas, S. A. (2007). The renin-angiotensin aldosterone system: pathophysiological role and pharmacologic inhibition. *J Manag Care Pharm*, 13(8 Suppl B), 9-20.
- Bae, S. H., Lee, J. N., Fitzky, B. U., Seong, J., & Paik, Y. K. (1999). Cholesterol biosynthesis from lanosterol. Molecular cloning, tissue distribution, expression, chromosomal localization, and regulation of rat 7-dehydrocholesterol reductase, a Smith-Lemli-Opitz syndrome-related protein. *J Biol Chem*, 274(21), 14624-14631.

- Baldwin, A. S., Jr. (1996). The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol*, 14, 649-683. doi: 10.1146/annurev.immunol.14.1.649
- Barkovich, R., & Liao, J. C. (2001). Metabolic engineering of isoprenoids. *Metab Eng*, 3(1), 27-39. doi: 10.1006/mben.2000.0168
- Barnes, P. J. (1996). Pathophysiology of asthma. *Br J Clin Pharmacol*, 42(1), 3-10.
- Bartok, B., & Firestein, G. S. (2010). Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis. *Immunol Rev*, 233(1), 233-255. doi: 10.1111/j.0105-2896.2009.00859.x
- Barton, M. (2013). Mechanisms and therapy of atherosclerosis and its clinical complications. *Curr Opin Pharmacol*, 13(2), 149-153. doi: 10.1016/j.coph.2013.05.001
- Beales, I. L., Hensley, A., & Loke, Y. (2013). Reduced esophageal cancer incidence in statin users, particularly with cyclo-oxygenase inhibition. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*, 4(3), 69-79. doi: 10.4292/wjgpt.v4.i3.69
- Becker, C., Jick, S. S., & Meier, C. R. (2008). Use of statins and the risk of Parkinson's disease: a retrospective case-control study in the UK. *Drug Saf*, 31(5), 399-407.
- Benigni, A., Cassis, P., & Remuzzi, G. (2010). Angiotensin II revisited: new roles in inflammation, immunology and aging. *EMBO Mol Med*, 2(7), 247-257. doi: 10.1002/emmm.201000080
- Berger, J., & Moller, D. E. (2002). The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med*, 53, 409-435. doi: 10.1146/annurev.med.53.082901.104018
- Bielinska, A., & Gluszko, P. (2007). [Statins--are they potentially useful in rheumatology?]. *Pol Arch Med Wewn*, 117(9), 420-425.
- Boatright, K. M., & Salvesen, G. S. (2003). Mechanisms of caspase activation. *Curr Opin Cell Biol*, 15(6), 725-731.
- Boyce, B. F., & Xing, L. (2007). Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther*, 9 Suppl 1, S1. doi: 10.1186/ar2165
- Brewer, T. M., Masuda, H., Liu, D. D., Shen, Y., Liu, P., Iwamoto, T., . . . Ueno, N. T. (2013). Statin use in primary inflammatory breast cancer: a cohort study. *Br J Cancer*, 109(2), 318-324. doi: 10.1038/bjc.2013.342
- Briasoulis, A., Agarwal, V., Valachis, A., & Messerli, F. H. (2013). Antihypertensive effects of statins: a meta-analysis of prospective controlled studies. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, 15(5), 310-320. doi: 10.1111/jch.12081

- Buhaescu, I., & Izzedine, H. (2007). Mevalonate pathway: a review of clinical and therapeutical implications. *Clin Biochem*, 40(9-10), 575-584. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2007.03.016
- Burg, J. S., & Espenshade, P. J. (2011). Regulation of HMG-CoA reductase in mammals and yeast. *Prog Lipid Res*, 50(4), 403-410. doi: 10.1016/j.plipres.2011.07.002
- Castellani, R. J., Rolston, R. K., & Smith, M. A. (2010). Alzheimer disease. *Dis Mon*, 56(9), 484-546. doi: 10.1016/j.disamonth.2010.06.001
- Chang, C. H., Fontes, J. D., Peterlin, M., & Flavell, R. A. (1994). Class II transactivator (CIITA) is sufficient for the inducible expression of major histocompatibility complex class II genes. *J Exp Med*, 180(4), 1367-1374.
- Chao, D. T., & Korsmeyer, S. J. (1998). BCL-2 family: regulators of cell death. *Annu Rev Immunol*, 16, 395-419. doi: 10.1146/annurev.immunol.16.1.395
- Cortes-Bergoderi, M., Pineda, A. M., & Santana, O. (2013). The pleiotropic effects and therapeutic potential of the hydroxy-methyl-glutaryl-CoA reductase inhibitors in gastrointestinal tract disorders: a comprehensive review. *J Gastrointestin Liver Dis*, 22(2), 199-204.
- Crane, F. L. (2001). Biochemical functions of coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr*, 20(6), 591-598.
- Cuello, F. M., Kato, C. S., Diaz, S. D., & Owen, G. (2013). [Effects of statins in cancer]. *Rev Med Chil*, 141(2), 227-236. doi: 10.4067/S0034-98872013000200013
- Cybulsky, M. I., Iiyama, K., Li, H., Zhu, S., Chen, M., Iiyama, M., . . . Milstone, D. S. (2001). A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest*, 107(10), 1255-1262. doi: 10.1172/JCI11871
- Dauer, W., & Przedborski, S. (2003). Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*, 39(6), 889-909.
- Davignon, J. (2012). Pleiotropic effects of pitavastatin. *Br J Clin Pharmacol*, 73(4), 518-535. doi: 10.1111/j.1365-2125.2011.04139.x
- DeBose-Boyd, R. A. (2008). Feedback regulation of cholesterol synthesis: sterol-accelerated ubiquitination and degradation of HMG CoA reductase. *Cell Res*, 18(6), 609-621. doi: 10.1038/cr.2008.61
- DeKosky, S. T. (2005). Statin therapy in the treatment of Alzheimer disease: what is the rationale? *Am J Med*, 118 Suppl 12A, 48-53. doi: 10.1016/j.amjmed.2005.09.006

- Derynck, R., Akhurst, R. J., & Balmain, A. (2001). TGF-beta signaling in tumor suppression and cancer progression. *Nat Genet*, 29(2), 117-129. doi: 10.1038/ng1001-117
- Edwards, P. A., & Ericsson, J. (1999). Sterols and isoprenoids: signaling molecules derived from the cholesterol biosynthetic pathway. *Annu Rev Biochem*, 68, 157-185. doi: 10.1146/annurev.biochem.68.1.157
- El-Serag, H. B., & Rudolph, K. L. (2007). Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*, 132(7), 2557-2576. doi: 10.1053/j.gastro.2007.04.061
- Endo, A. (2010). A historical perspective on the discovery of statins. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 86(5), 484-493.
- Fernandez-Medarde, A., & Santos, E. (2011). Ras in cancer and developmental diseases. *Genes Cancer*, 2(3), 344-358. doi: 10.1177/1947601911411084
- Ghany, M. G., Strader, D. B., Thomas, D. L., Seeff, L. B., & American Association for the Study of Liver, D. (2009). Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology*, 49(4), 1335-1374. doi: 10.1002/hep.22759
- Gradman, A. H., Basile, J. N., Carter, B. L., Bakris, G. L., & American Society of Hypertension Writing, G. (2011). Combination therapy in hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, 13(3), 146-154. doi: 10.1111/j.1751-7176.2010.00397.x
- Haas, G. P., Delongchamps, N., Brawley, O. W., Wang, C. Y., & de la Roza, G. (2008). The worldwide epidemiology of prostate cancer: perspectives from autopsy studies. *Can J Urol*, 15(1), 3866-3871.
- Haggar, F. A., & Boushey, R. P. (2009). Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg*, 22(4), 191-197. doi: 10.1055/s-0029-1242458
- Hinshaw-Makepeace, J., Huston, G., Fortner, K. A., Russell, J. Q., Holoch, D., Swain, S., & Budd, R. C. (2008). c-FLIP(S) reduces activation of caspase and NF-kappaB pathways and decreases T cell survival. *Eur J Immunol*, 38(1), 54-63. doi: 10.1002/eji.200636956
- Istvan, E. S., & Deisenhofer, J. (2001). Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. *Science*, 292(5519), 1160-1164. doi: 10.1126/science.1059344
- Jackson, S. P. (2011). Arterial thrombosis--insidious, unpredictable and deadly. *Nat Med*, 17(11), 1423-1436. doi: 10.1038/nm.2515

- Jasinska, M., Owczarek, J., & Orszulak-Michalak, D. (2007). Statins: a new insight into their mechanisms of action and consequent pleiotropic effects. *Pharmacol Rep*, 59(5), 483-499.
- Jick, H., Zornberg, G. L., Jick, S. S., Seshadri, S., & Drachman, D. A. (2000). Statins and the risk of dementia. *Lancet*, 356(9242), 1627-1631.
- Jo, Y., Sguigna, P. V., & DeBose-Boyd, R. A. (2011). Membrane-associated ubiquitin ligase complex containing gp78 mediates sterol-accelerated degradation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *J Biol Chem*, 286(17), 15022-15031. doi: 10.1074/jbc.M110.211326
- Junior, V. C., Danni Fuchs, F., Moreira Beltrami, L., Gerhardt, M., Fuchs, S. C., Rafael Sloczinski, C., . . . Gus, M. (2013). Blood pressure-lowering effect of simvastatin: a placebo-controlled randomized clinical trial with 24-h ambulatory blood pressure monitoring. *J Hum Hypertens*. doi: 10.1038/jhh.2013.35
- Kamberi, L. S., Bedri Bakalli, A., Muhamet Budima, N., Rashit Gorani, D., Karabulut, A. M., & Talat Pallaska, K. (2012). Pleiotropic and Lipid-lowering Effects of Statins in Hypertension. *Mater Sociomed*, 24(2), 84-86. doi: 10.5455/msm.2012.24.84-86
- Kelly, G. S. (1999). Squalene and its potential clinical uses. *Altern Med Rev*, 4(1), 29-36.
- Khan, I. M., Redman, S. N., Williams, R., Dowthwaite, G. P., Oldfield, S. F., & Archer, C. W. (2007). The development of synovial joints. *Curr Top Dev Biol*, 79, 1-36. doi: 10.1016/S0070-2153(06)79001-9
- Khan, K. H., Yap, T. A., Yan, L., & Cunningham, D. (2013). Targeting the PI3K-AKT-mTOR signaling network in cancer. *Chin J Cancer*, 32(5), 253-265. doi: 10.5732/cjc.013.10057
- Krisans, S. K., Ericsson, J., Edwards, P. A., & Keller, G. A. (1994). Farnesyl-diphosphate synthase is localized in peroxisomes. *J Biol Chem*, 269(19), 14165-14169.
- Landsverk, O. J., Bakke, O., & Gregers, T. F. (2009). MHC II and the endocytic pathway: regulation by invariant chain. *Scand J Immunol*, 70(3), 184-193. doi: 10.1111/j.1365-3083.2009.02301.x
- Lardizabal, J. A., & Deedwania, P. C. (2011). The anti-ischemic and anti-anginal properties of statins. *Curr Atheroscler Rep*, 13(1), 43-50. doi: 10.1007/s11883-010-0147-y

- Libby, P. (2012). Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32(9), 2045-2051. doi: 10.1161/ATVBAHA.108.179705
- Lochhead, P., & Chan, A. T. (2013). Statins and colorectal cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 11(2), 109-118; quiz e113-104. doi: 10.1016/j.cgh.2012.08.037
- Lusis, A. J. (2000). Atherosclerosis. *Nature*, 407(6801), 233-241. doi: 10.1038/35025203
- McInnes, I. B., McCarey, D. W., & Sattar, N. (2004). Do statins offer therapeutic potential in inflammatory arthritis? *Ann Rheum Dis*, 63(12), 1535-1537. doi: 10.1136/ard.2004.022061
- Mihos, C. G., Artola, R. T., & Santana, O. (2012). The pleiotropic effects of the hydroxy-methyl-glutaryl-CoA reductase inhibitors in rheumatologic disorders: a comprehensive review. *Rheumatol Int*, 32(2), 287-294. doi: 10.1007/s00296-011-2008-6
- Mihos, C. G., & Santana, O. (2011). Pleiotropic effects of the HMG-CoA reductase inhibitors. *Int J Gen Med*, 4, 261-271. doi: 10.2147/IJGM.S16779
- Mitin, N., Rossman, K. L., & Der, C. J. (2005). Signaling interplay in Ras superfamily function. *Curr Biol*, 15(14), R563-574. doi: 10.1016/j.cub.2005.07.010
- Neuvonen, P. J., Niemi, M., & Backman, J. T. (2006). Drug interactions with lipid-lowering drugs: mechanisms and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther*, 80(6), 565-581. doi: 10.1016/j.clpt.2006.09.003
- Neve, A., Corrado, A., & Cantatore, F. P. (2013). Osteocalcin: skeletal and extra-skeletal effects. *J Cell Physiol*, 228(6), 1149-1153. doi: 10.1002/jcp.24278
- Noble, K. E., Panayiotidis, P., Collins, P. W., Hoffbrand, A. V., & Yong, K. L. (1996). Monocytes induce E-selectin gene expression in endothelial cells: role of CD11/CD18 and extracellular matrix proteins. *Eur J Immunol*, 26(12), 2944-2951. doi: 10.1002/eji.1830261221
- O'Brien, R. J., & Wong, P. C. (2011). Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annu Rev Neurosci*, 34, 185-204. doi: 10.1146/annurev-neuro-061010-113613
- Palanski, W. (2000). Retirado de: www.rdnsystems.com/cb_detail_objectname_SP01_Immunosuppression.aspx.
- Paraskevas, K. I. (2008). Statin treatment for rheumatoid arthritis: a promising novel indication. *Clin Rheumatol*, 27(3), 281-287. doi: 10.1007/s10067-007-0806-8

- Pearce, M. M., Wang, Y., Kelley, G. G., & Wojcikiewicz, R. J. (2007). SPFH2 mediates the endoplasmic reticulum-associated degradation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors and other substrates in mammalian cells. *J Biol Chem*, 282(28), 20104-20115. doi: 10.1074/jbc.M701862200
- Politis, M., Wu, K., Molloy, S., P, G. B., Chaudhuri, K. R., & Piccini, P. (2010). Parkinson's disease symptoms: the patient's perspective. *Mov Disord*, 25(11), 1646-1651. doi: 10.1002/mds.23135
- Puglielli, L., Tanzi, R. E., & Kovacs, D. M. (2003). Alzheimer's disease: the cholesterol connection. *Nat Neurosci*, 6(4), 345-351. doi: 10.1038/nn0403-345
- Qi, Y., & Xia, P. (2012). Cellular inhibitor of apoptosis protein-1 (cIAP1) plays a critical role in beta-cell survival under endoplasmic reticulum stress: promoting ubiquitination and degradation of C/EBP homologous protein (CHOP). *J Biol Chem*, 287(38), 32236-32245. doi: 10.1074/jbc.M112.362160
- Raisz, L. G. (2005). Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest*, 115(12), 3318-3325. doi: 10.1172/JCI27071
- Rajendran, L., Honsho, M., Zahn, T. R., Keller, P., Geiger, K. D., Verkade, P., & Simons, K. (2006). Alzheimer's disease beta-amyloid peptides are released in association with exosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(30), 11172-11177. doi: 10.1073/pnas.0603838103
- Ridley, A. J. (2004). Rho proteins and cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 84(1), 13-19. doi: 10.1023/B:BREA.0000018423.47497.c6
- Rip, J. W., Rupar, C. A., Ravi, K., & Carroll, K. K. (1985). Distribution, metabolism and function of dolichol and polyprenols. *Prog Lipid Res*, 24(4), 269-309.
- Royal College of Physicians. (2009). Rheumatoid Arthritis: National Clinical Guideline for Management and Treatment in Adults *NICE Clinical Guidelines* (Vol. 79, pp. 3-41).
- Ruan, F., Zheng, Q., & Wang, J. (2012). Mechanisms of bone anabolism regulated by statins. *Biosci Rep*, 32(6), 511-519. doi: 10.1042/BSR20110118
- Schachter, M. (2005). Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update. *Fundam Clin Pharmacol*, 19(1), 117-125. doi: 10.1111/j.1472-8206.2004.00299.x
- Selkoe, D. J. (2001). Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev*, 81(2), 741-766.

- Sezer, E. D., Sozmen, E. Y., Nart, D., & Onat, T. (2011). Effect of atorvastatin therapy on oxidant-antioxidant status and atherosclerotic plaque formation. *Vasc Health Risk Manag*, 7, 333-343. doi: 10.2147/VHRM.S17781
- Shovman, O., Levy, Y., Gilburd, B., & Shoenfeld, Y. (2002). Antiinflammatory and immunomodulatory properties of statins. *Immunol Res*, 25(3), 271-285. doi: 10.1385/IR:25:3:271
- Stancu, C., & Sima, A. (2001). Statins: mechanism of action and effects. *J Cell Mol Med*, 5(4), 378-387.
- Stossel, T. P. (2008). The discovery of statins. *Cell*, 134(6), 903-905. doi: 10.1016/j.cell.2008.09.008
- Stuve, O., Prod'homme, T., Youssef, S., Dunn, S., Neuhaus, O., Weber, M., . . . Zamvil, S. S. (2004). Statins as potential therapeutic agents in multiple sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 4(3), 237-244.
- Suzuki, Y., Ruiz-Ortega, M., Lorenzo, O., Ruperez, M., Esteban, V., & Egido, J. (2003). Inflammation and angiotensin II. *Int J Biochem Cell Biol*, 35(6), 881-900.
- Taubenberger, J. K., & Morens, D. M. (2008). The pathology of influenza virus infections. *Annu Rev Pathol*, 3, 499-522. doi: 10.1146/annurev.pathmechdis.3.121806.154316
- Thurnher, M., Gruenbacher, G., & Nussbaumer, O. (2013). Regulation of mevalonate metabolism in cancer and immune cells. *Biochim Biophys Acta*, 1831(6), 1009-1015. doi: 10.1016/j.bbailip.2013.03.003
- Tristano, A. G., & Fuller, K. (2006). Immunomodulatory effects of statins and autoimmune rheumatic diseases: novel intracellular mechanism involved. *Int Immunopharmacol*, 6(12), 1833-1846. doi: 10.1016/j.intimp.2006.08.006
- Tsartsalis, A. N., Dokos, C., Kaiafa, G. D., Tsartsalis, D. N., Kattamis, A., Hatzitolios, A. I., & Savopoulos, C. G. (2012). Statins, bone formation and osteoporosis: hope or hype? *Hormones (Athens)*, 11(2), 126-139.
- van Beuningen, H. M., Glansbeek, H. L., van der Kraan, P. M., & van den Berg, W. B. (1998). Differential effects of local application of BMP-2 or TGF-beta 1 on both articular cartilage composition and osteophyte formation. *Osteoarthritis Cartilage*, 6(5), 306-317. doi: 10.1053/joca.1998.0129
- Vaz, B., Halder, S., & Ramadan, K. (2013). Role of p97/VCP (Cdc48) in genome stability. *Front Genet*, 4, 60. doi: 10.3389/fgene.2013.00060

- WHO. (2013). A global brief on hypertension.
- Ying, Z., Wang, H., Fan, H., Zhu, X., Zhou, J., Fei, E., & Wang, G. (2009). Gp78, an ER associated E3, promotes SOD1 and ataxin-3 degradation. *Hum Mol Genet*, 18(22), 4268-4281. doi: 10.1093/hmg/ddp380
- Yuan, C., Zhou, L., Cheng, J., Zhang, J., Teng, Y., Huang, M., . . . Yao, X. (2012). Statins as potential therapeutic drug for asthma? *Respir Res*, 13, 108. doi: 10.1186/1465-9921-13-108
- Zeichner, S., Mihos, C. G., & Santana, O. (2012). The pleiotropic effects and therapeutic potential of the hydroxy-methyl-glutaryl-CoA reductase inhibitors in malignancies: a comprehensive review. *J Cancer Res Ther*, 8(2), 176-183. doi: 10.4103/0973-1482.98967